F 1330

KAT

ACADEMIA REPUBLICII POPULARE ROMÎNE
INSTITUTUL DE BIOCHIMIE

1
ANUL IV
1961

studii şi cercetări de biochimie

EDITURA ACADEMIEI REPUBLICII POPULARE ROMÎNE

F 1330

ACADEMIA REPUBLICII POPULARE ROMÎNE
INSTITUTUL DE BIOCHIMIE

STUDII ŞI CERCETĂRI DE BIOCHIMIE

1

ANUL IV

1961

EDITURA ACADEMIEI REPUBLICII POPULARE ROMÎNE

COMITETUL DE REDACȚIE

ACADEMICIAN E. MACOVSCHI, *redactor responsabil*; ACADEMICIAN R. VLĂDESCU; D. ISĂCESCU, membru corespondent al Academiei R.P.R.; S. OERIU, membru corespondent al Academiei R.P.R.; E. SORU, membru corespondent al Academiei R.P.R.; M. MEZINCESCU; H. SLUȘANSCHI, *redactor adjunct*; I. VASILESCU; V. ALEXANDRESCU, *secretar tehnic de redacție.*

REVISTA STUDII ȘI CERCETĂRI DE BIOCHIMIE

APARE DE 4 ORI PE AN

Redacția : BUCUREȘTI, str. Popovici nr. 20
Telefon 18.43.55—17.79.63

ACADEMIA REPUBLICII POPULARE ROMÎNE
INSTITUTUL DE BIOCHIMIE

STUDII ŞI CERCETĂRI DE BIOCHIMIE

Tomul IV, nr. 1 1961

SUMAR

Pag.

EUGEN MACOVSCHI, Unele consideraţii cu privire la problema membranelor celulare şi a permeabilităţii lor 9

E. MACOVSCHI şi LIA ARNET, Relaţiile dintre amilaza, lipaza şi fosfataza alcalină din serul sangvin uman şi coacervatul obţinut din acest ser cu guma arabică 15

EUGENIA SORU, D. TĂNĂSESCU şi MARIA PARASCHIVESCU, Aminoacizii liberi intracelulari la *Mycobacterium tuberculosis* BCG şi variantele sale rezistente la streptomicină, PAS şi INH 23

I. MANTA, D. BEDELEANU, L. MUREŞANU şi V. GORUN, Biochimia ateromatozei. Nota I. Cercetări biochimice în ateromatoza experimentală . . 31

I. MANTA, D. BEDELEANU, T. C. LAZĂR şi LETIŢIA MUREŞANU, Biochimia ateromatozei. Nota II. Repartizarea ^{32} P în organele şi ţesuturile iepurilor ateromatoşi şi la cei trataţi cu hidrolizat de proteine (casamină) 45

M. D. MEZINCESCU, H. STRUGALI, M. TUDOR şi P. PIRCU, Repartiţia apei între compartimentele extra- şi intracelular în muşchii roşii şi muşchii albi 49

M. D. MEZINCESCU, E. SEREDIUC şi P. ROSEN, Nivelul excreţiilor diurne de arginină şi de glicociamină 59

O. COSTĂCHEL, M. FURNICĂ şi P. TĂUTU, Modificările acizilor nucleici din ţesuturi sub acţiunea dozelor mari de citostatice 69

E. T. BÎRSAN, B. CUPARENCU, AL. GĂVRUŞ şi J. RUSU, Studiul modificărilor unor compuşi fosforaţi în miocardul, muşchii scheletici şi plămînul şobolanilor suprarenalectomizaţi 79

I. KIŢULESCU, V. BĂLUŢĂ şi G. DINESCU, Date biochimice privind rolul acetilfosfatului în activitatea sistemului nervos şi mecanismul sintezei sale 87

L. VAISLER, JEANA BIENER şi EMMA COSTINER, Cercetări asupra funcţiei de conjugare a ficatului la animale cu ficatul lezat şi la animale tratate cu vitamina B_{12} 97

Pag.

MIHAIL ŞERBAN, Comportarea proteinelor cerebrale acvosolubile în procesul de salifiere şi desalifiere 103

EUG. PĂUNESCU, Identificarea derivaţilor metabolici ai hidrazidei acidului izonicotinic 117

LIVIU POPA, Contribuţii la dozarea derivaţilor purinici ai acizilor nucleici . . 123

V. GEICULESCU, S. CĂPÎLNĂ, I. PINCIU, A. DINCĂ, T. LAZĂR şi C. GEICULESCU, Modificările biochimice în boala astmatică în urma balneo-fizioterapiei Govora 129

ALEX. BATCU, Contribuţii la studiul acţiunii oxido-reducătoare a vitaminelor. Nota VII. Unele reacţii de oxido-reducere a vitaminelor E şi K 135

RECENZII 141

CRONICA BIOCHIMIEI DIN R.P.R. 161

EDITURA ACADEMIEI REPUBLICII POPULARE ROMÎNE

АКАДЕМИЯ РУМЫНСКОЙ НАРОДНОЙ РЕСПУБЛИКИ
ИНСТИТУТ БИОХИМИИ

ТРУДЫ И ИССЛЕДОВАНИЯ ПО БИОХИМИИ

Том IV, № 1 1961

СОДЕРЖАНИЕ

Стр.

ЕУДЖЕН МАКОВСКИЙ, Некоторые данные относительно клеточных мембран и их проницаемости 9

Е. МАКОВСКИЙ и ЛИЯ АРНЕТ, Соотношение между амилазой, липазой, щелочной фосфатазой кровяной сыворотки человека и коацерватом, полученным из этой сыворотки с гуммиарабиком 15

ЕУДЖЕНИЯ СОРУ, Д. ТЭНЭСЕСКУ и МАРИЯ ПАРАСКИВЕСКУ, Свободные внутриклеточные аминокислоты у „*Mycobacterium turberculosis*" БКГ и ее разновидностей, устойчивых по отношению к стрептомицину, ПАС и ГИН 23

И. МАНТА, Д. БЕДЕЛЯНУ, Л. МУРЕШАНУ и В. ГОРУН, Биохимия атероматоза. Сообщение I. Биохимические исследования опытного атероматоза 31

И. МАНТА, Д. БЕДЕЛЯНУ, Т. К. ЛАЗЭР и ЛЕТИЦИЯ МУРЕШАНУ, Биохимия атероматоза. Сообщение II. Распределение ^{32}P в органах и тканях атероматозных кроликов по сравнению с кроликами, которым вводили белковый гидролизат (казамин) 45

М. Д. МЕЗИНЧЕСКУ, Х. СТРУГАЛИ, М. ТУДОР и П. ПИРКУ, Распределение воды между вне- и внутриклеточными опРеделениями в красных и белых мышцах 49

М. Д. МЕЗИНЧЕСКУ, Е. СЕРЕДЮК и П. РОЗЕН, Уровень дневных выделений аргинина и гликоциамина 59

О. КОСТЭКЕЛ, М. ФУРНИКЭ и П. ТЭУТУ, Изменения нуклеиновых кислот тканей под действием больших доз цитостатиков 69

Е. Т. БЫРСАН, Б. КУПАРЕНКУ, А. ГЭВРУШ и Ж. РУСУ, Исследование изменений некоторых фосфоросодержащих соединений из миокарда, поперечно-полосатых мышц и легкого крыс, у которых вырезаны надпочечники 79

И. КИЦУЛЕСКУ, В. ЕЭЛУЦЭ и Г. ДИНЕСКУ, Биохимические данные относительно роли ацетилфосфата в деятельности нервной системы и механизм его синтеза 87

Л.ВА ЙСЛЭР, ЖАНА БИНЭР и ЭММА КОСТИНЕР, Исследование сопряженной функции печени у животных с пораженной печенью и у животных, которым вводили витамин B_{12} 97

Стр.

МИХАИЛ ШЕРБАН, Поведение растворимых в воде белков мозга в процессе засаливания и высаливания 103

Е. ПЭУНЕСКУ, Выявление метаболических производных гидразида изоникотиновой кислоты 117

ЛИВИУ ПОПА, К вопросу о количественном определении производных нуклеиновых кислот 123

В. ДЖЕЙКУЛЕСКУ, С. КЭПЫЛНЭ, И. ПИНЧИУ, А. ДИНКЭ, Т. ЛАЗЭР и К. ДЖЕЙКУЛЕСКУ, Биохимические изменения при астматической болезни в результате бальнеофизиотерапии в Говоре. . . 129

А. БАТКУ, К вопросу об изучении окислительно-восстановительного действия витаминов. Сообщение VII. Некоторые окислительно-восстановительные реакции витаминов Е и К. 135

РЕЦЕНЗИИ 141

ХРОНИКА БИОХИМИИ В РНР 161

ИЗДАТЕЛЬСТВО АКАДЕМИИ РУМЫНСКОЙ НАРОДНОЙ РЕСПУБЛИКИ

ACADÉMIE DE LA RÉPUBLIQUE POPULAIRE ROUMAINE
INSTITUT DE BIOCHIMIE

ÉTUDES ET RECHERCHES DE BIOCHIMIE

Tome IV, nº 1 1961

SOMMAIRE

Page

EUGEN MACOVSCHI, Quelques considérations sur les membranes cellulaires et sur leur perméabilité 9

E. MACOVSCHI et LIA ARNET, Les relations entre l'amylase, la lipase et la phosphatase alcaline du sérum sanguin humain et le coacervat obtenu avec ce sérum et la gomme arabique 15

EUGENIA SORU, D. TĂNĂSESCU et MARIA PARASCHIVESCU, Les acides aminés libres intracellulaires chez *Mycobacterium tuberculosis* B.C.G. et chez ses variantes résistantes à la streptomycine, au P.A.S. et à l'isoniazide 23

I. MANTA, D. BEDELEANU, L. MUREŞANU et V. GORUN, La biochimie de l'athéromatose. Note I. Recherches biochimiques dans l'athéromatose expérimentale 31

I. MANTA, D. BEDELEANU, T. C. LAZĂR et LETIŢIA MUREŞANU, La biochimie de l'athéromatose. Note II. La répartition du ^{32}P dans les organes et tissus des lapins athéromateux ou traités à l'hydrolysat de protéines (casamine) 45

M. D. MEZINCESCU, H. STRUGALI, M. TUDOR et P. PIRCU, Répartition de l'eau entre les compartiments extra- et intracellulaire dans les muscles rouges et les muscles blancs 49

M. D. MEZINCESCU, E. SEREDIUC et P. ROSEN, Le niveau des excrétions diurnes d'arginine et de glycocyamine 59

O. COSTĂCHEL, M. FURNICĂ et P. TĂUTU, Modifications des acides nucléiques des tissus après l'administration de doses létales de cytostatiques . . 69

E. T. BÎRSAN, B. CUPARENCU, AL. GĂVRUŞ et J. RUSU, Etude des modifications de certains composés phosphorés, dans le myocarde, le muscle strié et le poumon du rat surrénalectomisé 79

I. KIŢULESCU, V. BĂLUŢĂ et G. DINESCU, Données biochimiques sur le rôle de l'acétylphosphate dans l'activité du système nerveux et sur le mécanisme de sa synthèse 87

L. VAISLER, JEANA BIENER et EMMA COSTINER, Recherches sur la fonction de conjugaison du foie chez les animaux au foie lésé et chez les animaux traités à la vitamine B_{12} 97

Page

MIHAIL ŞERBAN. Le comportement des protéines cérébrales hydrosolubles au cours du processus de salification et désalification 103

EUG. PĂUNESCU, Identification des dérivés métaboliques de l'hydrazide de l'acide isonicotinique 117

LIVIU POPA, Contribution aux méthodes de dosage des dérivés puriques des acides nucléiques 123

V. GEICULESCU, S. CĂPÎLNĂ, I. PINCIU, A. DINCĂ, T. LAZĂR et C. GEICULESCU, Les modifications biochimiques dans la maladie asthmatique, à la suite de la balnéo-physiothérapie à Govora 129

ALEX. BATCU, Contribution à l'étude de l'action oxydo-réductrice des vitamines. Note VII. Certaines réactions d'oxydo-réduction des vitamines E et K 135

COMPTES RENDUS 141

CHRONIQUE DE LA BIOCHIMIE DANS LA R. P. ROUMAINE . . 161

ÉDITIONS DE L'ACADÉMIE DE LA RÉPUBLIQUE POPULAIRE ROUMAINE

UNELE CONSIDERAȚII CU PRIVIRE LA PROBLEMA MEMBRANELOR CELULARE ȘI A PERMEABILITĂȚII LOR

DE

ACADEMICIAN EUGEN MACOVSCHI

De cîtăva vreme în literatura de specialitate se duce o discuție vie despre existența sau inexistența membranelor celulare. Adepții teoriei membranelor consideră că pătrunderea substanțelor în celule și eliminarea lor din acestea depind în primul rînd de permeabilitatea membranelor celulare, ceilalți factori avînd numai un rol secundar. Adversarii teoriei membranelor socotesc dimpotrivă, că pătrunderea și eliminarea substanțelor în și din celule depind mai ales de însușirea de sorbție a citoplasmei, permeabilitatea neavînd nici un rol, deoarece — după ei — membranele celulare nu există. Cum fiecare cercetător care lucrează în acest domeniu caută să aducă, pentru fundamentarea concepției sale, dovezi teoretice și experimentale cît mai convingătoare, s-a adunat pînă acum în sprijinul fiecăreia dintre cele două concepții opuse un material teoretic și factic bogat ; totuși nu s-a ajuns încă la soluționarea acestei interesante probleme, atît de importantă pentru biochimia celulară *).

Problema existenței sau inexistenței atît a membranelor celulare, în sensul unor alcătuiri speciale care despart citoplasma de mediul înconjurător, cît și a membranelor care despart diferitele formațiuni corpusculare intracelulare de citoplasmă capătă însă un alt aspect și duce la o serie de concluzii noi cu privire la permeabilitate, dacă o considerăm din punctul de vedere al dinamicii raporturilor funcționale dintre conținutul

*) Dat fiind că în legătură cu problema membranelor celulare și a permeabilității lor au apărut pînă acum multe lucrări, menționăm aici, spre exemplificare, numai cartea *„Problema kletocinoi proniţaemosti"* publicată în 1956 de prof. *A. S. Troșin* din Leningrad, directorul Institutului de citologie al Academiei de Științe din U.R.S.S. În acest volum, autorul critică teoria membranei și dezbate problema permeabilității celulare de pe pozițiile însușirilor de sorbție ale protoplasmei. Volumul cuprinde o bogată bibliografie, de aproximativ 1 200 titluri de lucrări. În 1958, cartea a fost tradusă în limba germană și a apărut la Jena sub titlul : A. S. TROSCHIN *„Das Problem der Zellpermeabilität"*.

celular şi mediul înconjurător, respectiv dintre conţinutul formaţiunilor corpusculare intracelulare şi citoplasma în care se găsesc ele.

Să pornim de la investigaţiile electrono-microscopice care arată că, cel puţin în anumite momente ale existenţei şi evoluţiei, celulele şi formaţiunile corpusculare intracelulare par a fi învelite într-un fel de plase fine, alcătuite din elemente fibrilare. Ochiurile acestor plase fiind în general relativ mari, permit trecerea într-un sens şi în altul a celor mai diferite molecule şi micele coloidale. Rezultă că astfel de plase nu pot fi considerate ca membrane propriu-zise şi lor nu li se poate aplica noţiunea de permeabilitate. În schimb, se poate afirma că rolul acestor plase constă în a menţine laolaltă anumite structuri bine definite din punct de vedere morfologic şi funcţional şi a asigura separarea spaţială a acestora de alte structuri, dotate cu alte însuşiri.

Formarea plaselor se datoreşte activităţii metabolice din celule şi această activitate contribuie desigur fie la menţinerea plasei existente, fie la generarea elementelor fibrilare noi, fie la degradarea şi distrugerea acestor elemente, ceea ce poate duce la dispariţia plasei. Consecinţele unor astfel de procese sînt lesne de înţeles. Într-adevăr, dacă datorită metabolismului celular se formează noi elemente fibrilare, înseamnă că plasa devine tot mai deasă şi mai groasă şi că ochiurile ei se micşorează treptat, prefăcîndu-se într-un fel de pori şi canale întortochiate. Un astfel de proces reprezintă transformarea progresivă a plasei într-o membrană a cărei permeabilitate pentru diferiţi compuşi chimici devine tot mai mică şi a cărei comportare faţă de aceşti compuşi depinde nu numai de natura, structura şi desimea plasei, dar şi de însuşirile chimice şi fizice ale elementelor fibrilare care o compun. Rezultă că, în anumite împrejurări, plasele se pot transforma în veritabile membrane permeabile, semipermeabile şi chiar impermeabile pentru diferiţi compuşi chimici şi că aceste membrane nu sînt nici statice, nici permanente, ci dimpotrivă, se găsesc în continuă transformare, evoluînd în funcţie de procesele metabolice care se produc în celulă.

Natura plaselor şi membranelor amintite nu rămîne nici ea mereu aceeaşi. Să luăm, de exemplu, cazul unei plase care la un moment dat vine în contact cu două faze lichide nemiscibile. Imediat apar în ochiurile plasei pelicule lichide, ale căror însuşiri mecanice şi fizico-chimice depind nu numai de natura celor două faze lichide, ci şi de natura plasei şi mărimea ochiurilor ei. Deducem că o astfel de alcătuire se comportă ca o „membrană lichidă" şi că permeabilitatea ei depinde, între altele, atît de raportul dintre coeficienţii de solubilitate ai substanţelor respective în cele două faze lichide şi de însuşirile de sorbţie ale fazelor, cît şi de raporturile dintre particulele substanţelor respective şi plasa ca atare. Să admitem acum că ochiurile unei plase sînt umplute cu citoplasmă. În acest caz se ajunge la formarea unor „membrane vii", ale căror însuşiri, inclusiv permeabilitatea, sînt condiţionate în special de mersul metabolismului la nivelul membranei, precum şi de posibilităţile de sorbţie ale citoplasmei, respectiv ale conţinutului formaţiunilor corpusculare intracelulare. Rezultă, că prin interacţiune cu diferite componente celulare, plasele şi membranele se pot complica şi pot căpăta însuşiri noi, modificîndu-şi profund permeabilitatea.

Mai este de reţinut că elementele fibrilare pot fi totodată şi contractile. În acest caz, dilatarea şi contractarea lor duc la modificarea mărimii ochiurilor şi grosimii fibrelor din care sînt alcătuite plasele şi membranele. Rezultă că procesele biochimice care se produc în citoplasmă şi în formaţiunile corpusculare intracelulare provocînd deplasări de pH, schimbări ale echilibrului enzimatic şi modificări în concentraţia substanţelor macroergice, a ionilor anorganici etc., pot influenţa direct starea de contracţie a elementelor fibrilare şi prin aceasta însuşirile plaselor şi membranelor respective.

Se înţelege că permeabilitatea celulară faţă de diferite substanţe depinde şi variază în funcţie de situaţia care se creează. Dacă plasa devine mai rară sau încetează chiar să existe, primează însuşirile de sorbţie ale citoplasmei, respectiv ale conţinutului formaţiunilor corpusculare intracelulare. Cînd însă plasa evoluează astfel încît începe să manifeste unele însuşiri de membrană, atunci, în fenomenele de permeabilitate, pe lîngă factorul de sorbţie încep să intervină într-un fel sau altul şi factorii condiţionaţi de existenţa membranei respective. Se înţelege, de asemenea, că comportarea, dinamismul şi evoluţia plaselor şi membranelor menţionate variază în funcţie de condiţiile locale. În consecinţă, natura, alcătuirea, structura şi însuşirile diferitelor porţiuni ale plaselor şi membranelor se pot deosebi profund între ele chiar la una şi aceeaşi celulă sau formaţiune corpusculară intracelulară şi pot evolua în sensuri diferite şi chiar opuse, după modul de evoluţie a metabolismului şi a altor factori interni şi externi la nivelul porţiunilor respective. Rezultă că, datorită acestor împrejurări, nu este totdeauna posibil să se precizeze dacă într-un anumit loc avem sau nu avem de-a face cu o plasă sau cu o membrană, şi aceasta cu atît mai mult cu cît apariţia şi dispariţia plaselor precum şi transformarea lor treptată în diferite membrane şi invers se fac, probabil, cu uşurinţă. De aceea, ar fi poate de preferat folosirea, în locul celor doi termeni „plasă" şi „membrană" a unui termen mai general: „învelitoare", care îi cuprinde pe amîndoi.

Comportarea învelitorilor celulare, precum şi a învelitorilor formaţiunilor corpusculare intracelulare, mai depinde şi de raporturile lor cu citoplasma.

Se ştie că citoplasma se găseşte în continuă mişcare, ceea ce se observă de exemplu la microscop pe obiecte de provenienţă vegetală, sau la filme obţinute prin microcinematografierea culturilor de ţesuturi animale. Se constată nu numai existenţa curenţilor citoplasmatici în interiorul celulelor, dar şi faptul că citoplasma, în mişcarea ei, apasă, împinge şi deplasează formaţiunile corpusculare intracelulare, apasă ritmic asupra pereţilor celulari şi formează chiar un fel de pseudopode care se retrag pentru a apare în alte puncte ale suprafeţei celulare. Din toate acestea tragem concluzia că citoplasma poate determina deformări reversibile mai mult sau mai puţin accentuate ale învelitorilor care, datorită elasticităţii lor, se întind sub acţiunea presiunii şi se subţiază, lărgindu-şi ochiurile şi modificîndu-şi permeabilitatea. Asemenea deformări reversibile ale învelitorilor sînt însoţite desigur şi de schimbări ale distanţelor dintre sarcinile electrice, de modificări ale grosimii peliculelor lichide existente

eventual în ochiuri şi pori, şi de alte fenomene care pot modifica la rîndul lor trecerea diferitelor substanţe prin învelitori. Înseamnă că toţi factorii care influenţează elasticitatea învelitorilor şi mobilitatea citoplasmei influenţează totodată şi permeabilitatea învelitorilor.

În privinţa substanţelor care pătrund şi circulă prin celule, considerăm că numai atunci cînd sînt libere moleculele, micelele şi chiar şi particule mai mari ale lor, pot trece prin învelitori din mediul înconjurător în citoplasmă, din citoplasmă în formaţiunile corpusculare intracelulare şi invers. Moleculele şi micelele fixate într-un fel sau altul, fizic sau chimic, pe structurile cuprinse în învelitori, nu pot circula în celule. Capacitatea structurilor de a le reţine depinde însă de starea structurilor şi de fenomenele care se produc la nivelul lor. Aceasta înseamnă că schimbul material dintre celule şi mediul înconjurător, precum şi dintre citoplasmă şi formaţiunile corpusculare intracelulare depinde nu numai de permeabilitatea învelitorilor, nu numai de capacitatea de sorbţie a citoplasmei, ci şi de întregul complex de factori care condiţionează starea funcţională a structurilor intracelulare şi, prin aceasta, capacitatea lor de fixare şi eliberare parţială sau totală a celor mai diferite substanţe ce se află în mediul celular.

Rezultă că între structurile cuprinse în învelitori şi învelitorile respective există relaţii strînse de interdependenţă. Metabolismul, starea fizico-chimică, gradul de evoluţie şi alte însuşiri şi stări ale celulelor şi ale formaţiunilor corpusculare intracelulare, condiţionează natura, starea funcţională şi însuşirile învelitorilor şi invers. Această interdependenţă, bazată pe posibilităţi de transformare reciprocă, subliniază unitatea dinamică şi funcţională dintre învelitori şi conţinutul structural.

În consecinţă, constatăm că disputa cu privire la existenţa sau inexistenţa membranelor îşi pierde din însemnătate, dacă învelitorile şi mediile despărţite de ele sînt considerate dialectic ca formînd o unitate funcţională în continuă mişcare şi evoluţie dependentă de metabolism, şi dacă relaţiile de interdependenţă dintre învelitorile respective şi conţinutul structural sînt privite prin prisma unităţii dintre structură şi funcţie, ca reflectare a principiului unităţii dintre formă şi conţinut.

Institutul de biochimie
al Academiei R.P.R., Bucureşti

Prezentată la redacţie la 10 octombrie 1960

НЕКОТОРЫЕ ДАННЫЕ ОТНОСИТЕЛЬНО КЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАН И ИХ ПРОНИЦАЕМОСТИ

РЕЗЮМЕ

Вопрос клеточных мембран и их проницаемости представляется в новом виде, если его рассматривать с точки зрения динамики отношений между цитоплазмой, ее поверхностью и окружающей средой,

принимая также во внимание эволюцию структуры поверхности цитоплазмы в зависимости от обмена веществ. В процессе обмена веществ между цитоплазмой и окружающей средой играют роль не только природа и эволютивное состояние обволакивающих цитоплазму структур (которые не всегда можно считать мембранами), но и интенсивность цитоплазматического тока и сила, с которой он может деформировать поверхностные структуры; следует также принимать во внимание состояние внутрицитоплазматических структур, обусловливающих возможность фиксирования различных веществ внутри клетки, эволюция которого зависит от эволюции клеточного обмена.

Подобные же отношения проявляются между содержанием корпускулярных внутриклеточных образований, их поверхностью и окружающей цитоплазмой.

QUELQUES CONSIDÉRATIONS SUR LES MEMBRANES CELLULAIRES ET SUR LEUR PERMÉABILITÉ

RÉSUMÉ

La question des membranes cellulaires et de leur perméabilité se présente sous un jour nouveau lorsqu'elle est examinée au point de vue de la dynamique des rapports entre le cytoplasma, la surface de ce dernier et le milieu ambiant, tout en tenant compte de l'évolution de la structure de la surface du cytoplasma en raison du métabolisme. Au cours des échanges de substances entre le cytoplasma et le milieu ambiant, ce ne sont pas seulement la nature et l'état évolutif des structures qui enveloppent le cytoplasma — et qu'on ne peut pas toujours considérer comme des membranes — qui interviennent mais, aussi, l'intensité du courant cytoplasmique et la force avec laquelle ce courant peut déformer les structures de la surface; il y a également intervention de l'état des structures intracytoplasmiques, dont dépend la possibilité de fixation des différentes substances à l'intérieur de la cellule et dont l'évolution dépend de l'évolution du métabolisme cellulaire.

Des relations analogues s'établissent entre le contenu des formations corpusculaires intracellulaires, leur surface et le cytoplasma environnant.

RELAȚIILE DINTRE AMILAZA, LIPAZA ȘI FOSFATAZA ALCALINĂ DIN SERUL SANGVIN UMAN ȘI COACERVATUL OBȚINUT DIN ACEST SER CU GUMA ARABICĂ

DE

ACADEMICIAN E. MACOVSCHI și LIA ARNET

Problema cercetării relațiilor dintre coacervate și enzime ocupă în ultimii ani un loc din ce în ce mai însemnat în cercetările biochimice. Acest interes se explică pe de-o parte prin existența unor analogii remarcabile între proprietățile coacervatelor și cele ale protoplasmei celulare vii, iar pe de altă parte prin rolul atribuit coacervatelor în teoria lui A. I. Oparin [1] ca etapă importantă în procesul de transformare a materiei nevii în materie vie.

Lucrările efectuate de A. I. Oparin și colaboratori au pus în evidență capacitatea unor coacervate de a îngloba în momentul formării unele enzime, ca α-amilaza [2], β-amilaza [3], catalaza [4] și ribonucleaza [5], precum și substratele respective dacă acestea se găsesc în mediul în care se formează coacervatele. Cu această ocazie s-a constatat că în interiorul picăturilor de coacervat enzimele menționate acționează mai încet decît în mediu apos.

Cercetările efectuate în Institutul nostru au arătat că și picăturile de coacervat gata formate pot absorbi din soluția cu care vin în contact anumite enzime, ca β-amilaza și ureaza [6], influențînd în felul acesta mersul reacțiilor enzimatice din soluția înconjurătoare. Cu prilejul unor astfel de cercetări s-a mai constatat că unele enzime proteolitice, ca pepsina, tripsina și papaina [7], lipaza pancreatică [8] și unele substanțe proteice ca ovalbumina și hemoglobina [9] pot să exercite un efect coacervatolitic asupra coacervatului gelatină-gumă arabică. Totodată, s-au preparat pentru prima oară coacervate pe bază de proteine native, obținute prin tratarea serului sangvin uman cu gumă arabică și acid acetic [10], [11]. Coacervatele pe bază de proteine native par să prezinte un interes deosebit pe linia realizării unor modele de coacervate cu proprietăți fizico-chimice cît mai apropiate de cele ale citoplasmei vii.

Faptul că prin tratarea cu gumă arabică a serului sangvin uman care conţine o serie de enzime, ca amilaza, lipaza, fosfataza şi altele, se poate obţine un coacervat, pune problema relaţiilor dintre acest coacervat şi enzimele menţionate.

Conform cercetărilor lui A. I. Oparin şi celor din Institutul nostru, ar fi de aşteptat ca cel puţin unele din aceste enzime să fie înglobate în coacervat în timpul formării lui, sau să pătrundă în coacervat după ce picăturile acestuia s-au diferenţiat. Era interesant de stabilit dacă din acest punct de vedere există o deosebire de comportare între diferitele enzime, căci în cazul cînd unele enzime s-ar localiza în picăturile de coacervat iar altele nu, s-ar putea eventual elabora metode pentru separarea enzimelor respective.

Cu această ocazie s-a mai pus şi o altă problemă. Se ştie că după concepţiile lui H. G. Bungenberg de Jong [12] materialul coloidal prins în picăturile de coacervat se găseşte într-o stare de hidratare specială, datorită faptului că este prins într-un înveliş de solvatare („Solvatmantel") comun. Era interesant de stabilit dacă o astfel de schimbare de stare, intervenită eventual la enzimele înglobate în picăturile de coacervat, determină o modificare ireversibilă a calităţii acestor enzime, ceea ce s-ar putea constata prin determinarea coeficientului termic al activităţii lor, după trecerea din nou în soluţii apoase prin redizolvarea coacervatului.

Pentru a cerceta posibilitatea înglobării enzimelor din serul sangvin uman în picăturile de coacervat ce se obţin prin tratarea acestui ser cu gumă arabică şi acidulare, ne-am oprit la amilaza, lipaza şi fosfataza alcalină, adică tocmai la acele enzime serice care se cercetează curent în analizele biochimice medicale. Mai amănunţit am urmărit comportarea amilazei, ţinînd seama de faptul că ea se găseşte în ser în cantităţi uşor decelabile, în condiţiile noastre de lucru pe coacervat, şi că prezintă o activitate aproape constantă la serurile normale.

În principiu, pentru toate cele trei enzime s-a procedat astfel: s-a preparat din ser, gumă arabică şi acid acetic coacervatul respectiv, iar după centrifugare, pentru separarea picăturilor de coacervat de lichidul înconjurător, supernatantul a fost decantat. Masa de coacervat rămasă s-a dizolvat în apă alcalinizată şi s-au adăugat apoi atît în soluţia astfel obţinută, cît şi în supernatant, cantităţile de apă distilată şi de hidroxid alcalin necesare pentru a le aduce la acelaşi volum şi acelaşi pH. În sfîrşit, în ambele probe s-au introdus tamponul, activatorul şi substratul corespunzător, socotindu-se timpul de reacţie din momentul adăugării substratului. Stabilindu-se în aceste condiţii activitatea enzimei în cele două probe, se putea afla dacă şi în ce măsură enzima se înglobează în picăturile de coacervat şi cît la sută din activitatea ei rămîne în supernatant.

Pentru a stabili dacă enzima înglobată în coacervat şi-a schimbat sau nu activitatea, era suficient să se compare suma activităţii enzimelor din cele două probe cu activitatea unei soluţii martor obţinută din serul ca atare tratat întocmai ca şi cel supus coacervării, cu deosebirea că în acest caz coacervatul se redizolva imediat după formare, fără a fi centrifugat, astfel că serul respectiv suferea aceleaşi variaţii de pH şi conţinea în amestec aceleaşi substanţe ca şi probele cu picăturile de coa-

cervat sau cu supernatant. De altfel, activitatea enzimatică a acestei soluții martor este mai slabă (cam cu 20%, variind însă de la ser la ser) decît activitatea enzimatică a serului sangvin diluat cu apă și adus la pH-ul optim al reacției enzimatice respective, fără adaos de gumă arabică, de acid necesar formării coacervatului și de hidroxid necesar redizolvării lui. Aceasta arată că prezența gumei arabice și a celorlalte substanțe adăugate în cursul cercetării, modifică într-o oarecare măsură activitatea enzimelor cu care s-a lucrat.

Tehnica de lucru pentru amilază. Coacervatul s-a preparat din 0,5 ml ser sangvin uman, 0,5 ml gumă arabică 20%, 0,3 ml soluție de acid acetic 20% și 3,7 ml apă distilată. S-a centrifugat timp de 10 min la 3 000 ture pe minut, apoi s-a separat supernatantul de picăturile de coacervat. S-a adus supernatantul cu soluție de hidroxid de potasiu 20% la pH egal cu 6,8 și s-a completat cu apă distilată la 5 ml. La coacervat s-a adăugat 4 ml apă distilată și apoi soluție de hidroxid de potasiu 20% pînă la pH 6,8 ceea ce duce la dizolvarea coacervatului și s-a adus de asemenea la 5 ml. Martorul s-a preparat astfel : s-au amestecat 0,5 ml ser, 0,5 ml gumă arabică 20%, 0,3 ml acid acetic, 3 ml apă, apoi fără a se centrifuga s-a adăugat soluție de hidroxid de potasiu 20% pentru a dizolva coacervatul și a realiza pH-ul 6,8 și s-a completat cu apă distilată la 5 ml.

În fiecare din cele trei amestecuri de reacție, cu volum și pH egale, astfel preparate, s-au introdus : 0,5 ml tampon de fosfați M/15 avînd pH 6,8 ; 0,5 ml soluție de clorură de sodiu, 5 M și 1 ml soluție de amidon 1%. În tot timpul în care s-a urmărit amiloliza, probele au fost menținute în termostat la 37°C. La un minut, o oră și 2 ore după adăugarea substratului, s-a determinat cantitatea de zahăr reducător format prin hidroliza amidonului cu ajutorul metodei Hagedorn-Jensen [13], cu deosebirea că în loc de 0,1 ml ser, cum prescrie metoda, s-a întrebuințat cîte 1 ml din soluțiile de analizat. Rezultatele analizelor exprimate în ml tiosulfat M/200, fiind reproductibile și comparabile între ele, pot fi folosite pentru aprecierea comparativă a puterii amilolitice a soluțiilor, deși se realizează o altă diluție finală a reactivilor decît în metoda originală.

Tabela 1

Activitatea amilazei serice din picături de coacervat, supernatant și proba martor în interval de 2 ore la 37°C. Fiecare experiență se referă la alt ser, iar cifrele reprezintă media a 2—3 determinări

Experiența nr.	Activitatea amilazei (ml tiosulfat de sodiu 0,005 n) în			Suma a+b	Raportul a/b
	Picăturile de coacervat a	Lichidul supernatant b	Soluția martor c		
1	0,29	0,46	0,74	0,75	0,63
2	0,36	0,33	0,61	0,69	1,09
3	0,39	0,52	0,89	0,91	0,75
4	0,57	0,34	0,77	0,91	1,67
5	0,37	0,48	0,67	0,85	0,77
6	0,22	0,30	0,49	0,52	0,73
7	0,42	0,36	0,45	0,78	1,16
8	0,62	0,52	0,85	1,14	1,19
9	0,21	0,25	0,48	0,46	0,84

Examinînd rezultatele obținute pentru amilază, redate în tabela 1, se constată că picăturile de coacervat au capacitatea de a reține o cantitate apreciabilă din această enzimă. Suma valorilor activității amilazei

în coacervat şi supernatant se apropie, în majoritatea cazurilor, în limita erorilor experimentale, de activitatea probei martor. În ceea ce priveşte raportul activitatea amilazei în coacervat/activitatea amilazei în supernatant, media valorilor obţinute pentru un număr de 9 experienţe este de 1,01 adică practic egală cu unitatea. Rezultă deci că în momentul coacervării serului activitatea amilazei se repartizează, în cele mai multe cazuri, aproximativ egal între picăturile de coacervat şi lichidul înconjurător, deşi sînt şi cazuri cînd activitatea amilolitică se concentrează mai mult fie în supernatant, fie în picăturile de coacervat. Se pare că aceasta depinde şi de natura serului, ceea ce face ca valoarea raportului dintre activitatea amilazei în coacervat şi în supernatant să varieze în limite destul de largi (valoarea minimă observată în cele 9 experienţe este de 0,63; valoarea maximă este de 1,67).

În ceea ce priveşte concentraţia enzimei, dacă ţinem seama că după centrifugare volumul supernatantului este de 4,5—4,6 ml şi volumul coacervatului este de 0,4—0,5 ml, înseamnă că la activitate egală s-a realizat o concentraţie de aproximativ 10 ori mai mare a amilazei în picăturile de coacervat faţă de lichidul înconjurător.

Pentru a stabili dacă repartiţia amilazei între coacervat şi supernatant se schimbă în timp, deci dacă se poate pune eventual în evidenţă fie o pătrundere progresivă a enzimei în interiorul picăturii de coacervat, fie o eliberare a ei din picătură în lichidul înconjurător, s-a procedat astfel: s-a determinat activitatea amilazei în picăturile de coacervat şi în supernatant imediat după formarea coacervatului, în modul descris anterior, iar pe o altă porţiune din acelaşi ser, coacervatul preparat identic s-a lăsat ca atare, necentrifugat, la 3°C, timp de 24 ore. După acest interval, el a fost centrifugat şi s-a determinat din nou activitatea amilazei după metoda amintită mai sus. Rezultatele au dovedit că repartiţia activităţii amilazei între coacervat şi lichidul înconjurător nu variază în timp, ceea ce înseamnă că echilibrul se stabileşte chiar în momentul formării picăturilor de coacervat.

În ceea ce priveşte cercetarea înglobării lipazei şi a fosfatazei alcaline serice în picăturile de coacervat obţinute din ser şi gumă arabică, ea a decurs principial în mod analog cu cea efectuată în cazul amilazei.

Activitatea lipolitică din picăturile de coacervat şi supernatant s-a urmărit pe substrat de tributirină, cu ajutorul metodei stalagmometrice [13]. Prepararea celor două probe, una conţinînd picăturile de coacervat şi cealaltă supernatantul, s-a făcut în acelaşi mod şi utilizînd diferitele componente în aceleaşi proporţii ca şi în cazul amilazei. La un volum total de 10 ml probă conţinînd picăturile de coacervat, respectiv supernatantul, respectiv martorul, proba fiind adusă la pH 8,6 s-au adăugat 15 ml soluţie saturată de tributirină şi 1 ml soluţie tampon de fosfaţi M/15 cu pH 8,6. Reacţia s-a urmărit la temperatura camerei, măsurînd cu stalagmometrul tensiunea superficială a amestecurilor la diferite intervale de timp. Rezultatele obţinute, exprimate în numărul de picături corespunzător scăderii tensiunii superficiale şi reprezentînd media a 5 determinări, sînt date în tabela 2.

Tabela 2

Activitatea lipazei serice din picături de coacervat, supernatant și proba martor, la temperatura camerei. Cifrele reprezintă media a 5 determinări și exprimă numărul de picături corespunzător tensiunii superficiale a soluțiilor respective

Timpul de hidroliză min	Activitatea lipazei în		
	Picăturile de coacervat	Lichidul supernatant	Soluția martor
1	120	123	121
120	109	115	101
Scăderea numărului de picături în determinarea stalagmometrică	11	8	20

Din datele prezentate se constată că activitatea lipolitică se repartizează între coacervat și supernatant, suma celor două activități fiind apropiată de aceea a martorului.

Comportarea fosfatazei alcaline în procesul de coacervare a serului s-a urmărit folosind același procedeu de preparare a coacervatului și de separare a picăturilor de coacervat de supernatant. Activitatea fosfatazică s-a determinat cu ajutorul metodei fotocolorimetrice a lui A. Bodanschi [14] pe substrat de glicerofosfat de potasiu la 38°C. Datele obținute au indicat și pentru fosfataza alcalină localizarea unei fracțiuni din activitatea enzimatică în picăturile de coacervat.

Se constată deci, că cele trei enzime cercetate : amilaza, lipaza și fosfataza alcalină prezintă comportări asemănătoare față de coacervatul ce se obține prin tratarea serului sangvin cu gumă arabică și acid acetic.

Este interesant de relevat și faptul că, în timp ce lipaza pancreatică are asupra coacervatului gelatină-gumă arabică un efect coacervatolitic [8], lipaza serică, prezentă în mediul în care se formează picăturile de coacervat din ser și gumă arabică, nu exercită asupra acestora o influență asemănătoare ; stabilitatea picăturilor coacervatului ce se obține prin tratarea cu gumă arabică a serului față de eventuala acțiune coacervatolitică a diferitelor enzime din ser, s-ar putea datori înglobării în picăturile de coacervat a anumitor substanțe. Rezultate încă nepublicate ale unor cercetări efectuate în Institutul nostru în colaborare cu E. Bleoancă, au arătat, de exemplu, că picăturile acestui coacervat au proprietatea de a include aproape toată cantitatea de colesterol din ser. Nu ar fi exclus ca prezența colesterolului, sau eventual a unor fosfolipide înglobate astfel în coacervat, să exercite un rol protector, împiedicînd distrugerea lui de către unele enzime serice.

După cum arată rezultatele menționate, amilaza, lipaza și fosfataza alcalină, înglobate în prealabil în picăturile de coacervat din ser și gumă arabică și apoi trecute din nou în soluție apoasă, își păstrează puterea lor hidrolitică ; totuși acest fapt nu poate da o indicație suficientă asupra unor modificări fizico-chimice mai profunde și poate chiar ireversibile, pe care enzimele le-ar suferi eventual după includerea lor în coacervat.

Într-adevăr, nu ar fi exclus ca starea specială de hidratare pe care moleculele de enzime o au atunci cînd se găsesc în interiorul coacervatului, să determine o anumită schimbare a calităţii acestor enzime.

O posibilitate de a cerceta o asemenea schimbare de stare ar fi determinarea comparativă a coeficientului termic al activităţii amilazei din serul care a fost supus coacervării faţă de cel al activităţii amilazei din serul ca atare. În acest sens, am ţinut seama de lucrările lui V. Blagovescenski care, pe baza unor consideraţii teoretice şi a unor experienţe cu fermenţi vegetali, a căutat să fundamenteze ideea că valoarea coeficientului termic caracterizează într-o anumită măsură calitatea unei enzime [15]. Chiar dacă, aşa cum subliniază B. A. Rubin [16], anumite concluzii ale lui V. Blagovescenski referitoare la caracterizarea speciilor de plante prin valoarea coeficientului termic al activităţii enzimatice sînt neîndreptăţite, totuşi există o anumită corelaţie între coeficientul termic al activităţii unei enzime şi calitatea acesteia în condiţii date.

Tabela 3

Coeficientul termic al activităţii amilazei serice din picăturile de coacervat, exprimat prin raportul activităţii hidrolitice a enzimei în interval de 2 ore la temperaturile de 30 şi 40°C. Fiecare experienţă se referă la alt ser

Experienţa nr.	Coeficientul termic al activităţii amilazei din	
	Picăturile de coacervat	Lichidul supernatant
1	1,41	1,45
2	1,47	1,41
3	1,54	1,62
4	1,58	1,35
5	1,50	1,55

De aceea, am determinat coeficientul termic al activităţii amilazei, făcînd raportul activităţii amilolitice a picăturilor coacervatului obţinut din ser cu gumă arabică, în condiţiile de lucru descrise anterior, la temperaturile de 30 şi 40°C; paralel am determinat coeficientul termic al martorului, lucrînd în aceleaşi condiţii, asupra unei cantităţi echivalente de ser. Rezultatele obţinute pe mai multe seruri şi date în tabela 3, arată că valorile coeficientului termic din cele două probe sînt apropiate, ceea ce dovedeşte că coacervarea serului nu afectează calitatea amilazei care a fost înglobată în picăturile de coacervat.

În încheiere, rezultă că picăturile coacervatului obţinut prin tratarea serului sangvin uman cu gumă arabică în prezenţă de acid acetic, au proprietatea de a îngloba o anumită cantitate din amilaza, lipaza şi fosfataza alcalină serică. Picăturile de coacervat includ aproximativ 50% din puterea hidrolitică a enzimelor menţionate, restul rămînînd în soluţie. Echilibrul repartizării enzimelor între picăturile de coacervat şi lichidul înconjurător se stabileşte chiar în momentul formării coacervatului şi nu se modifică în timp.

Coeficientul termic al activităţii amilazei serice, care a fost înglobată în picăturile coacervatului amintit şi trecută din nou în soluţie apoasă prin redizolvarea coacervatului, este practic egal cu coeficientul termic al amilazei din serul ca atare, ceea ce dovedeşte că includerea enzimei în picăturile de coacervat nu determină o modificare ireversibilă a calităţii ei.

Institutul de biochimie
al Academiei R.P.R., Bucureşti

Prezentată la redacţie la 10 octombrie 1960

СООТНОШЕНИЯ МЕЖДУ АМИЛАЗОЙ, ЛИПАЗОЙ, ЩЕЛОЧНОЙ ФОСФАТАЗОЙ КРОВЯНОЙ СЫВОРОТКИ ЧЕЛОВЕКА И КОАЦЕРВАТОМ, ПОЛУЧЕННЫМ ИЗ ЭТОЙ СЫВОРОТКИ С ГУММИ-АРАБИКОМ

РЕЗЮМЕ

Авторы доказали, что капли коацервата, полученного при обработке кровяной сыворотки человека гуммиарабиком в присутствии уксусной кислоты, обладают свойством поглощать известное количество амилазы, липазы и щелочной фосфатазы сыворотки; капли коацервата включают в себя около 50% гидролитической силы указанных энзимов, другие 50% остаются в окружающем их растворе. Равномерное распределение энзимов между каплями коацервата и окружающей жидкостью устанавливается в самый момент образования коацервата и не изменяется во времени.

Термический коэффициент активности сывороточной амилазы, которая поглащалась каплями коацервата, а затем снова переводилась в водный раствор, путем растворения коацервата, практически равен термическому коэффициенту амилазы сыворотки, что доказывает, что поглощение энзима каплями коацервата не вызывает необратимого изменения ее качества.

LES RELATIONS ENTRE L'AMYLASE, LA LIPASE ET LA PHOSPHATASE ALCALINE DU SÉRUM SANGUIN HUMAIN ET LE COACERVAT OBTENU AVEC CE SÉRUM ET LA GOMME ARABIQUE

RÉSUMÉ

Les auteurs ont démontré que les gouttes du coacervat obtenu par le traitement du sérum humain à la gomme arabique, en présence d'acide acétique, ont la propriété d'englober une certaine quantité de l'amylase, de la lipase et de la phosphatase alcaline sérique ; les gouttes de coacervat incluent environ 50% du pouvoir hydrolytique de ces enzymes, le reste demeurant dans la solution. L'équilibre de la répartition des enzymes entre les gouttes de coacervat et le liquide ambiant s'établit au moment même de la formation du coacervat et ne se modifie plus au cours du temps.

Le coefficient thermique de l'activité de l'amylase sérique — qui a été englobée dans les gouttes du coacervat susmentionné puis passée de nouveau dans la solution aqueuse lors de la dissolution du coacervat —

est pratiquement égal au coefficient thermique de l'amylase du sérum initial. Ce phénomène démontre que l'inclusion de l'enzyme dans les gouttes de coacervat ne détermine pas une modification irréversible des qualités enzymatiques.

BIBLIOGRAFIE

1. A. I. OPARIN, *Originea vieţii pe pământ.* Ed. ştiinţifică, Bucureşti, 1960.
2. А. И. ОПАРИН, Т. Н. ЕВРЕИНОВА, Т. А. ШУБЕРТ, М. Н. НЕСТЮК, *Коацерваты и ферменты. Белкого-углеводные коацерваты и α-амилаза*, ДАН, **104**, 581 (1955).
3. Т. Н. ЕВРЕИНОВА, Т. А. ШУБЕРТ, М. Н. НЕСТЮК. *Коацерваты и β-амилаза*, ДАН, **105**, 137 (1956).
4. Т. Н. ЕВРЕИНОВА, Т. ЛАРИОНОВА, *Белкого-углеводные коацерваты и каталаза*, ДАН, **115**, 133 (1957)
5. А. И. ОПАРИН, К. Б. СЕРЕБРОВСКАЯ, *Действие рибонуклеазы включенной в коацерваты капли*, ДАН, **122**, 661 (1958).
6. E. MACOVSCHI, S. VASU, M. CÂRSTEANU, *Acţiunea ureazei şi β-amilazei asupra ureei, respectiv amidonului, în prezenţa unor coacervate gluco-proteice.* Studii şi cercetări de biochimie, **1**, *4*, 297 (1958).
7. Е. МАКОВСКИЙ и сотрудники, Образование и поведение желатино-гуммиарабиковых коацерватов в присутствии протеолитических ферментов и пищеварительных соков. Revue de chimie, **2**, *2*, 287 (1957).
8. L. SOICHER, *Comportarea coacervatului gelatină-gumă arabică în prezenţa lipazei.* Studii şi cercetări de biochimie, **2**, *3*, 321 (1959).
9. L. ARNET, *Formarea şi comportarea coacervatului gelatină-gumă arabică în prezenţa hemoglobinei şi serumalbuminei.* Studii şi cercetări de biochimie, **1**, *4*, 363 (1958).
10. E. MACOVSCHI, M. CÂRSTEANU, *Coacervatul dintre proteinele serului sanguin uman şi guma arabică.* Studii şi cercetări de biochimie, **2**, *2*, 111 (1959).
11. D. MOTET-GRIGORAS, *Participarea fracţiunilor proteice din serul sanguin uman normal la formarea coacervatului cu gumă arabică.* Studii şi cercetări de biochimie, **2**, *2*, 181 (1959).
12. H. G. BUNGENBERG DE JONG, *Die Koazervation und ihre Bedeutung für die Biologie.* Protoplasma, **15**, *1*, 110 (1932).
13. I. MANTA, AL. CIPLEA, *Metodele laboratorului clinic.* Cluj, 1947, 121, 143.
14. A. BODANSCHI, *Determination of serum inorganic phosphate and of serum phosphatase.* Journ. of. Clin. Path. Techn. Supplement, **7**, 51 (1937).
15. V. BLAGOVESCENSKI, *Bazele chimice ale procesului de evoluţie la plante.* Ed. agro-silvică de stat, Bucureşti, 1953, 131.
16. Б. А. РУБИН, *О роли ферментативных процессов во взаимоотношениях растений с внешней средой.* Проблемы биохимии в мичюринской биологии, **1**, 113 (1949).

AMINOACIZII LIBERI INTRACELULARI LA *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* BCG ŞI VARIANTELE SALE REZISTENTE LA STREPTOMICINĂ, PAS ŞI INH

DE

EUGENIA SORU
MEMBRU CORESPONDENT AL ACADEMIEI R.P.R.
D. TĂNĂSESCU şi MARIA PARASCHIVESCU

Aminoacizii liberi intracelulari constituie ceea ce a fost desemnat sub numele de „fondul comun de aminoacizi" („aminoacid pool"), din care celula îşi construieşte proteinele structurale şi funcţionale proprii. Se admite în general că utilizarea celulară a unui aminoacid trebuie să fie precedată de transferul său în interiorul celulei. Acumularea aminoacizilor din mediul exterior în interiorul celulei presupune un mecanism activ consumator de energie, corelat probabil cu procesele oxidative.

Componenţa în aminoacizi liberi, concentraţia lor în „fondul comun intracelular" şi mecanismul de acumulare şi de utilizare variază larg de la un organism la altul. Aceasta rezultă din lucrările lui H. N. Christensen [3] asupra celulelor carcinomului de ascită, ale lui S. Spiegelman şi H. O. Halvorson [8] asupra celulelor de levură şi ale lui E. F. Gale [4] asupra celulelor de stafilococ. Gale constată că la stafilococ, spre deosebire de celulele de carcinom de ascită şi de levură, acumularea de aminoacizi liberi este minimă în timpul sintezei proteinelor şi maximă cînd nu are loc sinteza sau cînd această sinteză este inhibată. Cercetările lui Gale au fost efectuate la stafilococ pentru cazul special al încorporării acidului glutamic. El constată că în condiţii optime pentru sinteza proteinelor această componentă pătrunde în interiorul celulei cu o viteză egală cu a încorporării sale în proteina nou sintetizată [4].

În cazul stafilococului supus acţiunii antibioticelor — penicilina, bacitracina şi în special cloramfenicolul — E. F. Gale şi J. P. Folkes [5] constată acumularea acidului glutamic în fondul de aminoacizi liberi intracelulari ca o consecinţă a dereglării sintezei proteinelor sub acţiunea antibioticelor.

Dirijarea utilizării aminoacizilor intracelulari liberi, neangajaţi în legături peptidice, spre sinteza proteinelor constituie desigur cel mai important factor care determină nivelul acestor aminoacizi în fondul comun intracelular, dar este probabil că ei sînt folosiţi şi pentru alte procese biosintetice, neproteinice, la care participă anumiţi aminoacizi (biosinteza hemului, purinelor etc.), astfel că acest fond metabolic are o semnificaţie foarte largă. Determinarea naturii şi concentraţiei aminoacizilor din acest fond de aminoacizi ar putea constitui un indicator al capacităţii biosintetice celulare şi în special un indicator al modificărilor acestei capacităţi în cursul transformărilor pe care le poate suferi o celulă.

Deoarece un germene rezistent la antibiotice prezintă un metabolism diferit de acel al homologului său sensibil, avînd în vedere rolul important al aminoacizilor intracelulari liberi în multiple procese biosintetice, am cercetat, în experienţele pe care le relatăm, dacă apariţia fenomenului de rezistenţă la *Mycobacterium tuberculosis* BCG, sub acţiunea antibioticelor, ca streptomicină, PAS şi INH, este reflectată şi în componenţa fondului de aminoacizi intracelulari liberi a diferitelor variante. Lucrarea descrie efectul apariţiei rezistenţei faţă de streptomicină, PAS şi INH asupra fondului de aminoacizi la *Mycobacterium tuberculosis* BCG, în funcţie de faza ciclului de creştere a variantei respective, procesele biosintetice şi în special sinteza proteinelor, variind în diversele faze ale acestui ciclu.

MATERIAL ŞI METODE

Tulpinile microbiene cercetate sînt : tulpina BCG sensibilă la acţiunea antibioticelor şi variantele sale adaptate la rezistenţă faţă de INH (250 γ/ml şi 400 γ/ml), streptomicină (1 000 γ/ml) şi PAS (500 γ/ml). Adaptarea este realizată prin suplimentarea progresivă a mediului de cultură (mediu Sauton) cu cantităţi crescînde de antibiotice. Variantele microbiene cercetate sînt cultivate pe mediu Sauton. Se examinează germenii corespunzători culturilor de 7, 14 şi 19 zile.

Extracţia aminoacizilor intracelulari liberi. Germenii corespunzători diferitelor vîrste sînt separaţi prin trecerea mediului de cultură prin hîrtie de filtru şi apoi spălare cu apă bidistilată, pînă la îndepărtarea oricărei urme de mediu. Se tratează ulterior cu acetonă şi eter de cîteva ori şi se usucă în vid. Germenii astfel spălaţi şi uscaţi sînt folosiţi pentru extracţia aminoacizilor intracelulari liberi, neangajaţi în legături peptidice. Deoarece aminoacizii intracelulari, deşi liberi, nu au facultatea de a difuza în afara celulei, extracţia lor necesită înlăturarea barierelor osmotice, celulare ; această înlăturare se poate efectua fie cu mijloace mecanice, fie fizice speciale, fie chimice, respectiv supunînd celulele unui tratament termic de scurtă durată sau acţiunii unui detergent, unui amestec hidroalcoolic sau unei extracţii acide. Dintre aceste diferite mijloace, cel mai eficace şi în acelaşi timp cel mai menajant s-a dovedit procedeul pe care l-am folosit în toate experienţele noastre : 50—80 mg corpi microbieni uscaţi (în vid, după tratare cu acetonă şi eter) sînt suspendaţi în 10—15 ml acid acetic 10%. Suspensia este supusă omogenizării într-un omogenizator de

sticlă tip Potter. Suspensia astfel omogenizată este adusă la 20 ml şi centrifugată, iar supernatantul, conţinînd aminoacizii intracelulari liberi, este decantat cantitativ, evaporat la sec (pe baie de apă la 100°C); reziduul, conţinînd aminoacizii intracelulari liberi, este reluat la 0,2 ml cu izopropanol 10%.

Determinarea aminoacizilor se face prin cromatografie monodimensională pe hîrtie Whatman nr. 1 şi SS 2 043 a, punînd cantităţi succesive pînă la completarea a 30 µl. Ca lichid de developare se foloseşte amestecul butanol : acid acetic : apă (11 : 3 : 11). Se fac irigări şi uscări repetate (4—5 irigări), pentru o separare eficace a blocului de aminoacizi cu R_f apropiat (blocul acid aspartic, serină, glicocol; blocul arginină, histidină, lizină; blocul acid glutamic, treonină). După ultima irigare hîrtia e uscată la 70°C şi pulverizată cu o soluţie de ninhidrină 0,20% în butanol saturat cu apă, pentru localizarea petelor. Se lasă să se usuce hîrtia la întuneric şi temperatura camerei. Fiecare pată este decupată şi fragmentată la dimensiuni mici; fragmentele sînt introduse în eprubete şi umectate cu o soluţie de cadmiu în acetonă [1]. Complexul ninhidrinic transformat astfel în complex de cadmiu, de culoare roz-roşie, este extras cu 4 ml metanol, soluţia metanolică colorată fiind fotometrată (λ 574 mµ) faţă de soluţii martor de aminoacizi prelucraţi concomitent şi prin aceleaşi manipulări ca şi proba de examinat.

Pentru controlul valorilor obţinute cu metoda descrisă s-a folosit şi metoda dinitrofenilării cu dinitrofluorbenzen (DNFB), în orînduirea tehnică a lui L e v y [6]. Aminoacizii liberi se dinitrofenilează cu DNFB, se extrag cu eter, se aplică pe hîrtie împregnată cu tampon ftalat de potasiu de pH = 6,0 soluţiile apoasă şi eterică, se face cromatografia în amestec alcool amilic terţiar — tampon ftalat de potasiu (pH = 6,0). Petele galbene corespunzătoare DNP-aminoacizilor sînt decupate, fragmentate şi introduse în eprubete, unde colorantul se eluează şi se fotometrează faţă de soluţii martor de DNP-aminoacizi preparaţi din aminoacizi puri.

REZULTATE

Valorile determinărilor cantitative exprimate în mg $\times 10^{-2}$/100 mg germeni (uscaţi) sînt date în figurile 1—5.

Se constată o acumulare preferenţială a acidului glutamic, depăşind cu mult pe aceea a celorlalţi aminoacizi. Urmează în ordine descrescîndă acumularea lizinei, metioninei, acidului aspartic, alaninei şi argininei. Ceilalţi aminoacizi: glicina, serina, valina, leucina sînt acumulaţi în proporţii cu mult mai reduse.

Aceste constatări arată că în fondul de aminoacizi liberi intracelulari acumularea diferiţilor aminoacizi are loc în chip selectiv. Această selectivitate se păstrează pentru toate variantele microbiene şi pentru toate fazele de creştere a germenilor. Acumularea *acidului glutamic*, *lizinei* şi *metioninei* de către celulele culturilor tinere (culturi de 7 zile) este mai mare la variantele rezistente la antibiotice decît la forma sensibilă de plecare, ceea ce ar indica în această fază de creştere o inhibare a utilizării acestor amino-

acizi în diversele procese biosintetice şi, după G a l e [4], o inhibare a sintezei proteinelor, ca o consecinţă a acţiunii antibioticelor. Acumularea acidului glutamic continuă să se menţină mai mare la variantele rezistente la antibiotice decît la forma sensibilă omoloagă şi la germenii care se găsesc în faza lor de creştere exponenţială (culturi de 14 zile), iar acumularea lizinei şi a metioninei în această fază devine mai mică decît a formei sensibile. Acumularea *acidului glutamic*, *lizinei* şi *metioninei* de către germenii culturilor mai bătrîne (culturi de 19 zile) este mai scăzută la variantele rezistente la antibiotice decît la forma sensibilă, ceea ce ar indica pentru diversele variante o inversiune în intensitatea de utilizare a acestor aminoacizi, în funcţie de faza de creştere a germenilor.

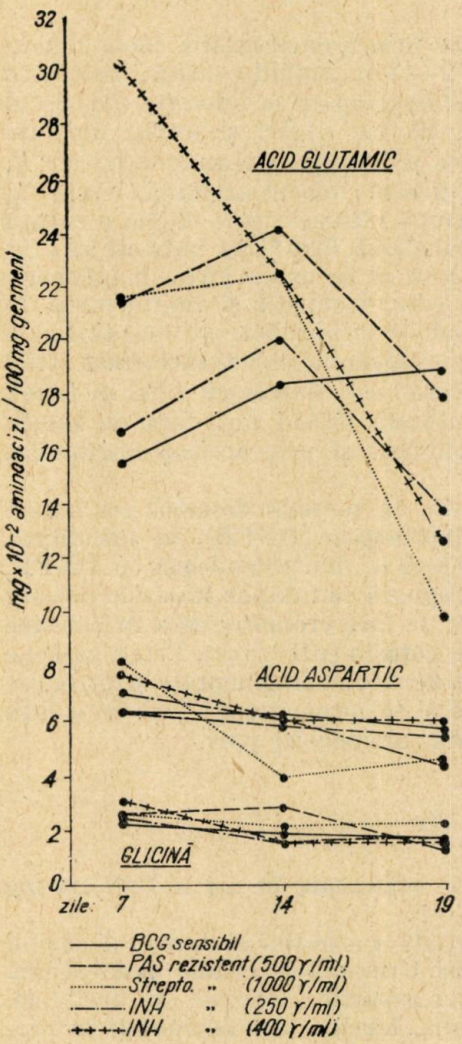


Fig. 1. — Variaţiile concentraţiei în acid glutamic şi acid aspartic în funcţie de vîrsta culturilor şi de varianta microbiană.

Dacă se consideră aminoacizii liberi intracelulari ca fiind participanţii fondului de aminoacizi utilizaţi de către celulă pentru diversele sale procese biosintetice specifice, diferenţele constatate de noi în ceea ce priveşte acumularea în acest fond celular a *acidului glutamic*, *lizinei* şi *metioninei* indică o modificare a utilizării acestor aminoacizi de către *Mycobacterium tuberculosis* BCG, ca o consecinţă a inducerii la acest germene a rezistenţei la antibioticele : streptomicină, PAS şi INH. Modificarea constatată poate fi datorită fie unei acţiuni directe a antibioticului asupra proceselor metabolice în care sînt implicaţi aceşti aminoacizi, fie unei deplasări a fazelor ciclului de creştere a germenilor [2], [7], şi, corespunzător acestei deplasări, aspectul diferit în utilizarea acidului glutamic, lizinei şi metioninei.

Pentru ceilalţi aminoacizi, respectiv pentru acei acumulaţi în cantitate mică în fondul aminoacizilor liberi intracelulari : glicina, valina, leucina, serina, alanina, acidul aspartic, variaţiile în raport cu varianta microbiană şi în raport cu faza de creştere a germenilor nu sînt apreciabile.

CONCLUZII

Gradul de acumulare a aminoacizilor în fondul de aminoacizi liberi intracelulari la *Mycobacterium tuberculosis* BCG, sensibil la streptomicină,

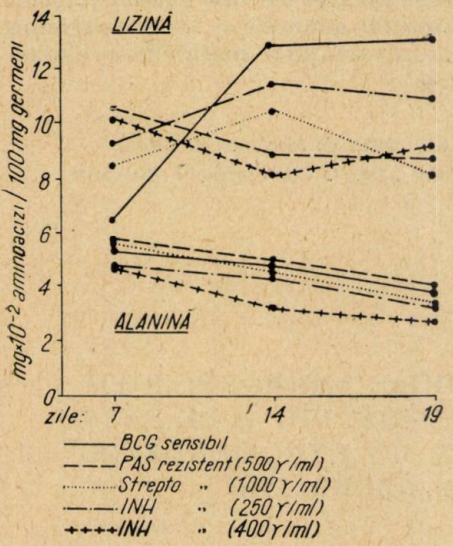


Fig. 2. — Variaţiile concentraţiei în lizină în funcţie de vîrsta culturilor şi de varianta microbiană.

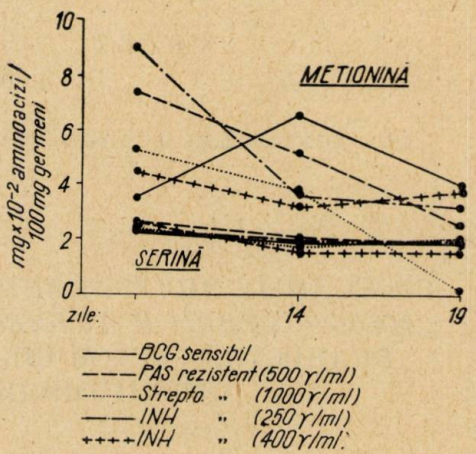


Fig. 3. — Variaţiile concentraţiei în metionină, în funcţie de vîrsta culturilor şi de varianta microbiană.

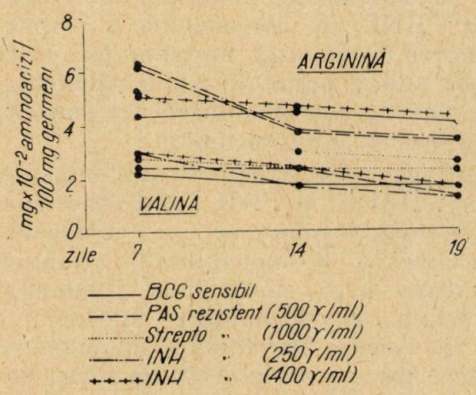


Fig. 4. — Variaţiile concentraţiei în arginină, în funcţie de vîrsta culturilor şi de varianta microbiană.

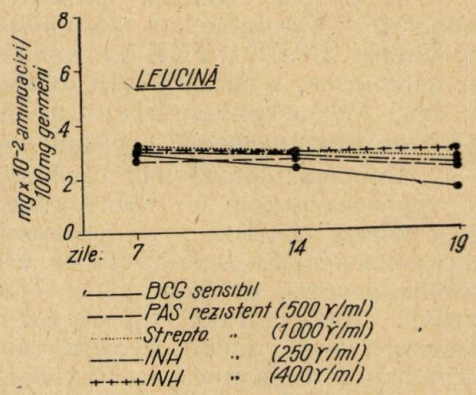


Fig. 5. — Variaţiile concentraţiei în leucină, în funcţie de vîrsta culturilor şi de varianta microbiană.

PAS şi INH, şi la variantele sale rezistente la aceleaşi antibiotice, variază în funcţie de aminoacidul respectiv, de faza de creştere a germenului şi de varianta microbiană. Acumularea este preferenţială pentru acidul glu-

tamic, în mai mică măsură pentru lizină şi metionină şi foarte redusă pentru ceilalţi aminoacizi. Acumularea acidului glutamic, lizinei şi metioninei de către celulele aparţinînd culturilor tinere (culturi de 7 zile) este mai intensă la variantele rezistente la antibiotice decît la forma sensibilă omoloagă, dar acest raport de acumulare este inversat la culturile mai bătrîne (culturi de 14 şi 19 zile). Variaţiile în intensitatea de acumulare a aminoacizilor liberi intracelulari pot constitui o imagine a variaţiilor metabolice celulare ale acestor aminoacizi.

Laboratorul de biochimie generală,
Institutul „Dr. I. Cantacuzino", Bucureşti

Prezentată la redacţie la 16 iunie 1960

СВОБОДНЫЕ ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЕ АМИНОКИСЛОТЫ У „*MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS*" БКГ И ЕЕ РАЗНОВИДНОСТЕЙ, УСТОЙЧИВЫХ ПО ОТНОШЕНИЮ К СТРЕПТОМИЦИНУ, ПАСК И ГИН

РЕЗЮМЕ

В работе описано влияние, оказываемое появлением устойчивости "*Mycobacterium tuberculosis*" БКГ по отношению к стрептомицину, ПАСК и ГИН на количество свободных внутриклеточных аминокислот, в зависимости от фазы цикла роста каждой разновидности, от биосинтетических процессов и, в особенности, от синтеза белков, изменяющемся в различных фазах данного цикла.

Степень накопления свободных внутриклеточных аминокислот у чувствительной к стрептомицину, ПАСК и ГИН „*Mycobacterium tuberculosis*" БКГ и у ее разновидностей, устойчивых по отношению к перечисленным антибиотикам, изменяется в зависимости от данной аминокислоты, от фазы роста бактерии и от микробной разновидности. Накопляется преимущественно глутаминовая кислота, в меньшей мере лизин и метионин и совсем ничтожно накопление остальных аминокислот. Накопление же глутаминовой кислоты, лизина и метионина в молодых клетках (семидневные культуры) более интенсивно у устойчивых разновидностей, чем у соответствующих чувствительных форм, но это соотношение в накоплении изменяется обратно у менее молодых клеток (14-дневные и 19-дневные культуры). Изменения интенсивности накопления свободных внутриклеточных аминокислот отражают изменения клеточного обмена данных аминокислот.

ОБЪЯСНЕНИЕ РИСУНКОВ

Рис. 1. — Изменения концентрации глутаминовой и аспарагиновой кислот в зависимости от возраста культур и от микробной разновидности.

Рис. 2. — Изменения концентрации лизина в зависимости от возраста культур и от микробной разновидности.

Рис. 3. — Изменения концентрации метионина в зависимости от возраста культур и от микробной разновидности.

Рис. 4. — Изменения концентрации аргинина в зависимости от возраста культур и от микробной разновидности.

Рис. 5. — Изменения концентрации лейцина в зависимости от возраста культур и от микробной разновидности.

LES ACIDES AMINÉS LIBRES INTRACELLULAIRES CHEZ *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* B.C.G. ET CHEZ SES VARIANTES RÉSISTANTES À LA STREPTOMYCINE, AU P.A.S. ET À L'ISONIAZIDE

RÉSUMÉ

L'article décrit l'effet de l'apparition de la résistance à la streptomycine, au P.A.S. et à l'isoniazide, chez *Mycobacterium tuberculosis* B.C.G., sur le fonds d'acides aminés libres intracellulaires, en fonction de la phase du cycle de croissance de chaque variante, les processus biosynthétiques, et tout spécialement la synthèse des protéines, variant au cours des différentes phases de ce cycle.

Le degré d'accumulation des acides aminés, au profit du fond d'acides aminés libres intracellulaires, varie chez *Mycobacterium tuberculosis* B.C.G. sensible à la streptomycine, au P.A.S. et à l'isoniazide et chez ses variantes résistantes aux mêmes antibiotiques, en raison de l'acide aminé respectif, de la phase du cycle de croissance du germe et de la variante microbienne. L'accumulation est prédominante pour l'acide glutamique, d'un moindre degré pour la lysine, et pour la méthionine et fort réduite pour les autres acides aminés. L'accumulation d'acide glutamique, de lysine et de méthionine dans les cellules appartenant aux cultures jeunes (de 7 jours) est plus intense chez les variantes résistantes aux antibiotique que chez les formes homologues sensibles. Cependant, ce rapport d'accumulation este renversé dans les cultures plus vieilles (cultures de 14 et 19 jours). Les variations de l'intensité d'accumulation des acides aminés libres intracellulaires représentent le reflet des variations métaboliques cellulaires de ces acides aminés.

EXPLICATION DES FIGURES

Fig. 1. — Variations des concentrations en acide glutamique et acide aspartique, en fonction de l'âge des cultures et de la variante microbienne.

Fig. 2. — Variations des concentrations en lysine, en fonction de l'âge des cultures et de la variante microbienne.

Fig. 3. — Variations de la concentration en méthionine, en fonction de l'âge des cultures et de la variante microbienne.

Fig. 4. — Variations de la concentration en arginine, en fonction de l'âge des cultures et de la variante microbienne.

Fig. 5. — Variations de la concentration en leucine, en fonction de l'âge des cultures et de la variante microbienne.

BIBLIOGRAFIE

1. BAROLLIER J., Naturwiss., **42**, 416 (1955).
2. BELJANSKI M., Ann. Inst. Pasteur, **84**, 402 (1953).
3. CHRISTENSEN H. N., *A Symposium on Amino Acid Metabolism* (W. McElroy, B. Glass eds.), Johns Hopkins, Univ. Press, Baltimore, 1955, 62.
4. GALE E.F., Advances in Protein Chem., **8**, 285 (1953).
   GALE E.F., *A Symposium on Amino Acid Metabolism* (W. McElroy, B. Glass eds.), Johns Hopkins, Univ. Press, Baltimore, 1955, 171.
   GALE E. F., *Proceedings of the Third International Congress of Biochemistry* (C. Liébecq ed.), Acad. Press, New York, 1956 b, 345.
5. GALE E. F., FOLKES J. P., Biochem. J., **55**, 721, 730 (1953).
6. LEVY, A. L., Nature, **174**, 126 (1954).
7. SORU E. şi colaboratori, Studii şi cercet. inframicrobiol., microbiol. şi parazitol., **VI**, *3—4*, 533 (1955).
8. SPIEGELMAN S., HALVORSON H. O., BEN-ISHAI R., *A Symposium on Amino Acid Metabolism* (W. McElroy, B. Glass eds.), Johns Hopkins, Univ. Press, Batimore, 1955, 124.

BIOCHIMIA ATEROMATOZEI

NOTA I. CERCETĂRI BIOCHIMICE ÎN ATEROMATOZA EXPERIMENTALĂ

DE

I. MANTA, D. BEDELEANU, L. MUREŞANU şi V. GORUN

Se consideră de către majoritatea autorilor că boala aterosclerotică este răspîndită în special la popoarele cu o evoluţie socială marcată şi atinge mai frecvent pe locuitorii oraşelor aglomerate, în special pe cei care lucrează intelectual, bărbaţii fiind mai expuşi decît femeile. Este cu prevalenţă o boală a vîrstei avansate şi se manifestă cu tulburări sclerotice ale peretelui vaselor, cu diminuarea sau pierderea elasticităţii, fiind interesate în special aorta în porţiunea arcului, toracelui şi abdomenului, arterele splenice, iliace, femurale, coronariene [1].

N. N. Anicicov [2], pe un număr mare de cazuri, găseşte la 25% din necropsiile indivizilor de peste 40 ani leziuni ateromatoase importante, iar A. Keis [3] arată că, eliminînd moartea prin violenţă şi infantilă (sub 5 ani), 40% din mortalitatea totală se poate atribui trecerii unui curent neadecvat de sînge prin coronare. F. Nicrosini [4] reproduce datele care arată că în al 6-lea deceniu de vîrstă frecvenţa mortalităţii este de 78%, iar în deceniul 7—9 de 92—98% din cauzele menţionate.

La noi în ţară, S. Cupcea (citat după [5]), bazat pe date statistice, arată că în 1950 ne găseam într-o poziţie intermediară, între ţările în care predomină bolile infecţioase şi cele în care devin mai frecvente bolile cardiovasculare, tinzînd prin micşorarea procentajului bolilor infecţioase către ultimul aspect.

Observaţiile clinice întreprinse sub conducerea acad. A. Moga [5] arată că înmulţirea bolilor cardiace de origine arterială, apreciate în raport cu frecvenţa infarctului miocardic, se face simţită în preajma celui de-al doilea război mondial, prezentînd o deosebită importanţă constatarea că această boală nu se mai observă astăzi exclusiv la bărbaţi şi în profesiile

ce angajează mai mult creierul, ci şi la muncitorii manuali, precum şi la femei şi tineri.

În ceea ce priveşte nutriţia, lucrările lui P. Aschenasy-Lelu [6] arată că este în strînsă legătură cu mediul şi influenţa unor variaţii sociale. Organismul, în general, îşi reglează metabolismul printr-un echilibru dinamic, definit de Schreider (citat după [6]) ca o „stare staţionară rezultată prin variaţii continue", ceea ce face să nu existe constante biologice în sensul strict al cuvîntului. Ceea ce se exprimă prin rezultatul dozării unei substanţe reflectă procesele metabolice ale organismului întreg, care este în permanentă stare de reînnoire şi reacţionează faţă de condiţiile externe punînd în joc sistemele sale de reglare : sistemul nervos şi glandele endocrine. Fiecare fiinţă vie aduce totuşi în această reglare şi o soluţie personală, punînd în joc posibilităţile fiziologice distincte.Din cauza aceasta, statisticile întreprinse asupra colesterolemiei au arătat foarte multe cauze de variaţiuni, care sînt şi fiziologice, de exemplu vîrsta, gradul de adipozitate, metabolismul bazal, conţinutul de colesterol sau lipide din alimente, pigmentarea, dar şi cauze neuro-endocrine.

Se ştie că, în funcţie de nutriţie, echipamentul enzimatic al organismului variază (la un regim bogat în grăsimi cresc lipazele, în cazul alimentării proteice cresc fermenţii proteolitici etc.). Se ştie de asemenea că în această privinţă se pot nota influenţele regimului alimentar (glicemia cofetarilor, uremia măcelarilor), precum şi influenţa mediului (mixoedemul, în funcţie de regiunile guşogene).

Ca teste biologice pentru depistarea bolii ateromatoase se practică dozarea colesterolemiei, lipemiei şi electroforeza, în care se depistează conţinutul în beta-lipoproteide, predominante.

În acest mod, ateromatoza apare ca o stare care se reflectă în dezechilibrul metabolismului lipidic, dar considerînd modificările în mod complex, eforturile noastre au fost îndreptate pentru stabilirea intricaţiunilor acestui metabolism în ateromatoză cu glucidele, proteinele, sistemele enzimatice şi substanţele minerale.

Reglarea neuro-endocrină este de mare însemnătate şi datele pe care le avem arată importanţa legăturilor între diferitele grupe de substanţe în metabolism. Astfel, centrul de saţietate şi foame, reprezentat de nucleul ventro-medial al hipotalamusului, inhibă în starea de saţietate centrul antero-median, scăzînd secreţia de ACTH, şi centrul postero-hipotalamic ce dirijează simpaticul şi secreţia de adrenalină. Pe de altă parte, metabolismul lipidelor din organism este reglat de hipofiza posterioară, punîndu-se în evidenţă factorul lui Seifter, mobilizator de lipide, sintetizat de sistemul reticulo-endotelial şi influenţat de cortizonă. Centrul diencefalic care interesează metabolismul lipidic este sub controlul cortexului cerebral, acesta avînd rolul major de coordonator. Menţionăm că factorul Seifter este în antagonism cu factorul de clarefiere a plasmei şi scade activitatea fibrinolitică [7].

Nu putem intra în amănunte în ceea ce priveşte glandele endocrine ; citărn doar rolul hipofizei anterioare şi posterioare, al capsulelor suprarenale, al pancreasului, al tiroidei şi glandelor sexuale, care întregesc tabloul complex al reglării metabolismului lipidic.

În ceea ce privește leziunea ateromatoasă, putem să considerăm un sindrom umoral, exteriorizat la nivelul sîngelui, îndeosebi în ceea ce privește componentele lipidice, și un sindrom al patului vascular, în care se disting modificări ale debitului circulator și leziuni ale peretelui.

În ceea ce privește leziunile umorale evidente, clasice, cercetările dietetice au arătat — prin faptul că grăsimile vegetale scad concentrația colesterolemiei, în timp ce grăsimile de proveniență animală o ridică, și de asemenea că uleiurile saturate (hidrogenate) pierd capacitatea de protecție — că diferitele componente lipidice au o mare importanță din punctul de vedere al creșterii colesterolemiei. Sinclair (citat după [8]) subliniază ca element hotărîtor scăderea din dieta alimentară integrală a conținutului în acizi grași esențiali (linolic, linolenic). Cercetarea fosfatidelor precizează rolul acizilor eicosapentenic (cu 5 duble legături) și docosahexenic (cu 6 duble legături), experiențele cu acetat marcat pledînd pentru producerea lor prin alungirea lanțului acizilor linolic și linolenic.

În general, părerile cercetătorilor în această privință sînt împărțite : unii susțin ca factor declanșator al ateromatozei creșterea cantității totale a lipidelor alimentare, deci excesul dietetic, alții lipsa acizilor grași esențiali și, în fine, alții le admit pe amîndouă [8].

Este posibil ca, pe lîngă acizii grași esențiali, să se ia în considerație și unele vitamine, ca vitaminele E și B_6, prima avînd o acțiune antioxidativă, iar cea de-a doua fiind indispensabilă pentru alungirea lanțului acizilor linolic și linolenic.

Anchetele au stabilit că prin tehnica de preparare și conservare a alimentelor, precum și prin dezechilibrarea regimului dietetic, toți acești factori suferă leziuni grave sau sînt total îndepărtați, ceea ce concordă cu creșterea procentului de îmbolnăviri prin ateromatoză.

Alte date, legate de schimbările la nivelul sangvin, reies din coagulogramă, în care timpul de protrombină apare micșorat, ceea ce denotă că activitatea fibrinolitică este modificată.

După Duguid, trombii de fibrină murali, dînd naștere la plăcuțele fibroase pe care sîngele le presează în edificiul vaselor, lezează pereții acestora și permit depozitarea secundară de lipide.

Foarte semnificativă este creșterea beta-lipoproteidelor cu greutate moleculară mare (1 300 000), purtătoare ale unei cantități de 70% din valoarea totală a colesterolului și în care raportul fosfolipide/colesterol este de 1—1,5. Crescînd concentrația fracțiunii puțin stabile a moleculelor mari de beta-lipoproteide și scăzînd aceea a lipoproteidelor, apare posibilitatea depozitării lipidelor în peretele vaselor.

În ceea ce privește lucrările lui Goffmann (citat după [8]), bazate pe metoda ultracentrifugării serului, anchetele extinse pe un număr foarte mare de cazuri arată că, în mod practic, aceasta nu prezintă o valoare diagnostică mai mare decît determinarea colesterolemiei, mult mai ușor de efectuat.

Factorul de clarefiere antilipemic, declanșat de heparina endogenă și exogenă ni se pare de mare importanță, întrucît el poate ajuta terapeuticii în mod eficient [8], existînd posibilități de a-l influența.

La bătrîni şi aterosclerotici de orice vîrstă, concentraţia heparinei şi a substanţelor heparinoide, precum şi posibilitatea de legare a lor cu proteinele sînt scăzute. Este probabil că creşterea concentraţiei lipoizilor sangvini măreşte secreţia heparinei care declanşează formarea factorului endogen de clarificare cu rol lipolitic (lipază specifică), acesta diminuînd lipemia alimentară. Se poate astfel înţelege raportul sporit al fracţiunilor lipoproteice la animalele cu ateroscleroză experimentală, la bătrîni şi respectiv la ateroslerotici.

La om putem avea ateromatoza fără o creştere a colesterolemiei, dar la omul vîrstnic şi la aterosclerotic serul nu dizolvă colesterolul, ci provoacă chiar precipitarea lui. Este semnificativă constatarea că, cu cît serul va avea o putere colesterolitică mai scăzută, cu atît el este mai apropiat de condiţiile etiologice ale aterosclerozei [9].

Cu privire la leziunile asupra patului vascular, se ştie, în general, că asistăm la o mărire a conţinutului lipidic, la scăderea elasticităţii şi creşterea mucopolizaharidelor acide în aorta patologică. Cercetările arată o înglobare de 3 ori mai mare a sulfului radioactiv în ţesutul lezat, o creştere a condroitin-sulfaţilor şi o scădere a condroitinei. Faptele pledează în sensul activării enzimelor din peretele aortei ateroscleroticului, care conduc la o deviere a metabolismului, în special prin producerea polizaharid-sulfaţilor [10].

I. Banga, J. Balo şi D. Bagdy [11], [12], [13], [14], [15] găsesc că fibrele elastice sînt specific desfăcute de o elastomucază, preparată din pancreas sub numele de elastază şi care apare scăzută în ateromatoză.

Hueper (citat după [8]) arată că macromolecule ca pectina, polivinilalcoolul, guma arabică etc. produc tulburări asemănătoare aterosclerozei, identificîndu-se aceşti componenţi, în locul colesterolului, în intima acestor animale. Autorul ia în considerare formarea unui film coloidal colesterolic în ateromatoză, care tulbură schimbul de gaze al intimei, modificînd permeabilitatea şi proliferarea celulelor endoteliului.

Concepţia unităţii proceselor din organism prin sistemul nervos este fundamentată şi în cazul aterosclerozei. F. K. Iarova [16] a obţinut, după lezarea accentuată a diencefalului, o hipercolesterolemie moderată şi de scurtă durată şi un stadiu incipient de infiltraţie a pereţilor aortici cu lipoizi, iar alţi autori relevă influenţa unor substanţe neurotrope (cafeină, cloralhidrat, barbamil) [17], a barbituricelor, fenaminei, nicotinamidei [18] asupra colesterolemiei şi evoluţiei aterosclerozei experimentale sau acţiunea clorpromazinei în obezitate, hiperlipemiile esenţiale sau ateroscleroza experimentală [19], [20], [21]. De asemenea, în sprijinul concepţiei participării sistemului nervos în procesele aterosclerozice, cercetătorii sovietici reuşesc să găsească modificări ale elementelor nervoase din arterele coronare, în ateroscleroză şi boala hipertonică la om [22].

OBIECTUL CERCETĂRILOR NOASTRE

Considerînd ateromatoza ca o boală care interesează întregul organism şi în care toate metabolismele sînt deviate faţă de normal, ne-am propus să studiem, în afară de parametrii caracteristici în ateromatoză

ai metabolismului lipidic, şi aspectele metabolismului glucidic, proteic şi mineral, la iepuri cărora li s-a instalat o ateromatoză experimentală prin alimentaţie cu grăsimi saturate şi adaos de colesterol.

Am urmărit în legătură cu metabolismul glucidic curba hiperglicemiei provocate, utilizarea fosfaţilor anorganici marcaţi cu fosfor radioactiv (v. nota II), piruvicacidemia şi coenzima acetilantă, ultimele două fiind comune şi altor metabolisme. În acelaşi timp am urmărit şi colesterolemia, lipemia şi electroforegramele pe hîrtie, pentru a controla instalarea ateromatozei. În legătură cu metabolismul proteic am determinat azotul total şi aminoacid. În ceea ce priveşte metabolismul mineral, am urmărit cuprul, oligoelement de mare importanţă atît pentru funcţiunea enzimelor heminice oxidative cît şi pentru enzime legate direct de metabolismul lipidic (etilendehidraza) [23], precum şi a proprietăţii de chelatare pe care el o manifestă faţă de acizii graşi şi aminaţi.

Într-o comunicare anterioară [24] s-au prezentat date preliminare despre influenţa unor aminoacizi administraţi sub formă de injecţii asupra componenţilor umorali ai serului iepurilor cu ateromatoză experimentală, publicate apoi de unul din autori [25].

MATERIAL ŞI METODE

Producerea ateromatozei experimentale. Iepurii (în loturi de cîte 8) erau hrăniţi, pe lîngă regimul alimentar normal, cu un supliment bogat lipidic, reprezentat prin „ulei hidrogenat" sau margarină, în care se încorpora 6% colesterol. Suplimentul reprezenta 5—6 g la zi şi, pentru a fi consumat de animale, era încorporat în făină de porumb.

„Uleiul hidrogenat" s-a obţinut prin hidrogenarea oleului comestibil în prezenţă de nichel Raney, pînă la consistenţă solidă (indice de iod 60—70). Am elaborat acest mod de provocare a ateromatozei inspiraţi din cercetările lui D. Kritchevschi [26] care arată că esterii acizilor graşi saturaţi sînt mai eficace în producerea ateromatozei.

Margarina utilizată a fost cea comercială, distrugîndu-se în prealabil vitamina A prin trecerea unui curent de aer la 120°C prin margarina topită, cunoscută fiind acţiunea de protejare a acestei vitamine faţă de instalarea aterosclerozei.

Lipemia totală a fost determinată după metoda Swann [27] modificată [28], prin depunerea unei cantităţi de ser pe o hîrtie de filtru, colorare cu Sudan III, spălare, tăierea petei în fragmente mici, eluare şi fotometrare.

Aminoacidemia s-a determinat cu ajutorul metodei Folin [29], prin tratarea a 1 ml ser cu naftochinonsulfonat de Na şi fotometrare.

Azotul total s-a determinat prin mineralizarea a 0,2 ml ser cu amestec de acid sulfuric—acid fosforic (1 : 1) în prezenţă de selenit de mercur, antrenarea amoniacului în aparatul Parnas-Wagner şi retitrarea excesului de H_2SO_4 0,01 n cu NaOH 0,01 n [30].

Colesterolemia s-a determinat pe 1 ml ser prin metoda Grigaut.

Acidul piruvic sangvin s-a dozat pe 1—2 ml sînge deproteinizat cu acid tricloracetic, fotometrînd culoarea roşie obţinută cu 2,4-dinitrofenilhidrazina în mediu alcalin, după metoda Friedemann şi Hougen [27].

Cupremia serică totală s-a determinat prin metoda Jerome şi Schmidt [31], tratînd serul cu 2,2'-dichinolil şi fotometrînd culoarea purpurie formată.

Dozarea activităţii *coenzimei acetilante* (CoA) s-a făcut prin determinarea acetilării sulfamidei după metoda Bratton-Marshall [32], dozînd sulfamida după metoda Marshall [33].

Testul de toleranţă la glucide s-a efectuat administrînd iepurilor intravenos soluţie de glucoză 20% în apă (0,5 ml/kg greutate corporală) [34] şi dozînd glicemia la 0,30, 60, 90 şi 120 min, prin fotometrarea culorii formate după reducerea sulfatului de cupru, în prezenţa Na_2HAsO_4 (metoda Nelson).

Pentru toate determinările sîngele s-a recoltat din vena marginală a urechii, după prealabila dilatare a vaselor prin tamponare cu xilol.

REZULTATE ŞI DISCUŢII

Rezultatele obţinute sînt prezentate în tabela 1, în care sînt cuprinse valorile obţinute la animalele hrănite cu regim hiperlipidic colesterolat (A), în cifre absolute şi relative, considerînd valoarea iniţială de 100%.

Deoarece durata experienţelor este relativ lungă, s-a păstrat şi un lot de animale martor (M), considerînd necesar acest lucru pentru evitarea erorilor datorite unor variaţii biochimice sezoniere şi de vîrstă.

Colesterolemia. În ceea ce priveşte acest factor, datele autorilor, începînd cu lucrările lui N. N. Anicikov [2], sînt unanime în a recunoaşte creşterea lui în aterosclerozele experimentale provocate prin hrănirea cu lipide şi adaos de colesterol. Determinările noastre arată o creştere foarte importantă (130%) a colesterolemiei la o perioadă mai lungă de alimentare. Această determinare am considerat-o utilă pentru aprecierea instalării modificărilor biochimice în ateromatoză, fiind unul din indicatorii biochimici specifici ai acestor tulburări.

Hiperlipidemia de origine alimentară este recunoscută de diferiţii cercetători [35], iar în determinările noastre ea a servit ca o verificare a apariţiei modificărilor umorale patologice. În cercetările noastre creşterea lipemiei totale este foarte accentuată, atingînd 21% la 45 zile şi 110% la 100 zile, în timp ce la martori se observă o creştere de numai 8%.

Hiperlipidemia, hipercolesterolemia, observarea vizuală a tulburelii serului, asociate cu recunoaşterea macroscopică şi microscopică a depunerilor lipido-colesterolice în aorta unor animale sacrificate, ne-au confirmat presupunerile că animalele sînt în faza unei ateromatoze experimentale.

Azotul aminoacid apare în scădere în perioada studiată, însă procentajul scăderii este similar cu al animalelor martor, ceea ce ne conduce la concluzia că în timpul studiat nu se observă modificări ale

Tabela 1

		Valoarea inițială		la 45 zile		la 100 zile	
		Valori absolute	%	Valori absolute	%	Valori absolute	%
Colesterolemia	A	63 (60—100)	100	108 (40—210)	171	145 (70—260)	230
mg %	M	70 (50—100)	100			87 (70—110)	124
Lipemia	A	291 (185—575)	100	354 (254—409)	121	613 (413—916)	210
mg %	M	369 (344—397)	100			399 (356—422)	108
Azot aminoacid	A	8,1 (6,0—10,7)	100	6,5 (5,3—7,5)	80	7,1 (5,7—8,5)	87
mg %	M	7,8 (7,5—8,0)	100	6,6 (6,5—6,7)	84	6,9 (6,6—7,4)	88
Azot total	A	1207 (1091—1526)	100	1152 (973—1351)	95	1077 (1015—1176)	89
mg %	M	1087 (1071—1099)	100	1159 (1110—1172)	106	1201 (1106—1260)	110
Piruvicemia	A	2,29 (1,33—3,70)	100	3,40 (2,32—4,97)	150	2,29 (0,61—3,84)	100
mg %	M	2,70 (1,15—5,11)	100	2,92 (1,70—4,12)	108	2,61 (1,70—3,44)	97
Cupremia	A	0,75 (0,48—0,92)	100	0,83 (0,38—1,40)	110	0,25 (0,16—0,48)	33
%	M	0,64 (0,54—0,78)	100	0,78 (0,62—0,90)	118	0,46 (0,38—0,54)	72
Coenzima acetilantă*)	A	26,6 (10—65)	100	37,5 (20—65)	71	45 (20—65)	59,2
sulfamidă liberă	M	27,5 (10—35)	100	28,7 (10—55)	95,8	30 (10—55)	91,7

*) Deoarece activitatea coenzimei acetilante este invers proporțională cu cantitatea de sulfamidă liberă dozată, am exprimat activitatea CoA în mod arbitrar, împărțind 100 la media sulfamidei pe fiecare lot de animale și am exprimat și valorile procentuale.
A — animale cu ateromatoza experimentală; M — animale martor.

aminoacidemiei totale. Rămîne să studiem în cadrul acestei aminoacidemii totale existenţa unor modificări calitative şi cantitative ale unor aminoacizi, pe care o presupunem.

Azotul total prezintă în perioada studiată o scădere de 11% la animalele hrănite cu regim hiperlipemic colesterolat, şi cifra devine şi mai semnificativă dacă se raportează la animalele martor, care manifestă o creştere a azotului total în această perioadă. Aceste date sînt în concordanţă cu acelea obţinute de M. G. Kriţman şi M. V. Bavina [36] care, urmărind procesul sintezei proteinelor cu ajutorul metodei izotopilor radioactivi (metionină marcată cu sulf radioactiv), constată la începutul perioadei o intensificare a sintezei proteinelor, urmată de o scădere la 60 zile (−18%) şi 100 zile (−29%), cifre destul de apropiate de cele obţinute de noi prin metodele chimice clasice. Studiind viteza sintezei proteinelor, aceşti autori constată că ea este inhibată în primul rînd în suprarenale şi cel mai tîrziu în sînge. Împreună cu autorii citaţi, constatăm modificări ale metabolismului azotat şi considerăm modificările înregistrate drept o componentă a reacţiei compensatorii a organismului, care asigură într-un anumit interval de timp normalizarea proceselor metabolice perturbate în cursul acestei afecţiuni.

Acidul piruvic, placă turnantă de o importanţă deosebită în metabolismele glucidic, lipidic şi protidic, prezintă un maxim la 45 zile (50%), pentru a reveni la valoarea normală la sfîrşitul perioadei studiate (100 zile). Această variaţie indică faptul că modificările nu sînt identice în tot timpul instalării ateromatozei şi că se pot presupune perioade în care sînt interesate metabolisme diferite. Modificarea piruvicemiei în cursul ateromatozei fundamentează de asemenea concepţia unei etiopatologii complexe a bolii, cu modificarea tuturor substanţelor fundamentale şi a echipamentului enzimatic amplu interesat în aceste procese.

Cuprul, microelement care intră în constituţia unor enzime (tirozinază, uricază, etilendehidrază) [37], este elementul care prezintă modificările cele mai semnificative din seria substanţelor studiate de noi. Se observă o uşoară creştere, nesemnificativă în comparaţie cu a martorilor, la 45 zile, pentru ca la 100 zile, cînd procesele biochimice sînt mult alterate, să constatăm la animalele martor o scădere (la 72%), iar la animalele ateromatoase o scădere deosebit de importantă (la 33% din valoarea iniţială), ceea ce indică alterarea gravă a metabolismului acestui element în cursul ateromatozei.

Modificările constatate de noi în ceea ce priveşte cuprul indică interesarea microelementelor în instalarea ateromatozei şi considerăm că ar putea deschide perspective noi în concepţiile etiopatogeniei şi a atitudinii terapeutice.

Coenzima acetilantă (CoA), sistem enzimatic de o importanţă primordială în utilizarea „acidului acetic activ" la sinteza diferitelor substanţe, arată o scădere la animalele ateromatoase, indicînd astfel o dereglare a diferitelor sinteze la care ia parte (colesterol, acizi graşi, fosfolipide, glicogen etc.).

Scăderea înregistrată de noi este în concordanţă cu aplicaţiile sale terapeutice, cu rezultate deosebit de favorabile într-una din manifestările

cele mai dramatice şi rebele ale aterosclerozei, arterita cronică [38]. Baza biochimică a acestei aplicaţii constă în faptul că CoA, provocînd o scădere importantă a piruvicemiei şi lactacidemiei, favorizează utilizarea energiei necesare sintezei glicogenului şi fosfolipidelor, cu preferinţă faţă de sinteza colesterolului, al cărui nivel sangvin rămîne constant, şi determină astfel ridicarea valorii raportului fosfolipide/colesterol, alterat în ateromatoză.

Valoarea hiperglicemiei provocate a fost determinată cu scopul de a se surprinde modificări în metabolismul glucidic, în special în ceea ce priveşte promptitudinea răspunsului hormonal interesat în metabolismul glucidelor, fiind cunoscută frecvenţa asocierii aterosclerozei cu diabetul [39]. Menţionăm că dozările glicemiei ne-au dat rezultate cu o mare dispersie statistică şi nu ne-au permis să tragem nici un fel de concluzii.

Rezultatele noastre, consemnate în tabela 2, arată un aspect modificat al curbei hiperglicemiei provocate, care prezintă la animalele hrănite cu colesterol 3—12 luni un platou mai înalt şi o deplasare a maximului spre dreapta faţă de martori, ceea ce indică un răspuns alterat al sistemului neuro-endocrin care reglează metabolismul glucidic. Modificările se referă la valorile de la 60—90 min după injectarea glucozei.

Tabela 2

Valorile hiperglicemiei provocate (în glucoză mg %)

	Timpul în min					
	0	30	60	90	120	180
Iepuri cu ateromatoză	68 (62—75)	116 (85—151)	162 (120—205)	144 (62—190)	68 (50—110)	50,5 (40—62)
Iepuri martor	59 (50—75)	109 (62—145)	120 (95—170)	101 (85—125)	71 (62—85)	53 (50—62)

Literatura menţionează ca un test mai sensibil dozarea în aceste condiţii a fosforului anorganic seric [34]. Cercetările noastre referitoare la repartizarea fosforului radioactiv în diferite organe fac obiectul notei II.

CONCLUZII

Pe baza înregistrării modificărilor biochimice semnalate de cercetători, cu valoare de indicatori biochimici ai stărilor ateromatoase sau preateromatoase, şi a observaţiilor anatomopatologice asupra aortei animalelor sacrificate, considerăm că regimul alimentar instaurat de noi, alcătuit din „ulei hidrogenat" sau margarină (cu vitamina A distrusă) şi colesterol administrat ca supliment pe lîngă hrana obişnuită dă rezultate satisfăcătoare în instalarea ateromatozei experimentale la iepuri.

Colesterolemia animalelor hrănite cu acest regim prezintă valori crescute, în acord cu majoritatea cercetătorilor.

Lipemia totală variază în acelaşi sens cu colesterolemia.

Aminoacidemia globală nu suferă modificări în perioada studiată de noi, dar lasă deschisă problema unor modificări mai subtile, interesînd diferiţii aminoacizi în parte, sau eventual la perioade mai scurte de timp.

Azotul total prezintă o scădere, în concordanţă cu cercetările cu atomi marcaţi efectuate de unii cercetători, în sensul unei scăderi a sintezei proteice.

Acidul piruvic apare crescut la 45 zile, pentru a se normaliza la 100 zile, ceea ce indică o periodizare a proceselor biochimice în instalarea ateromatozei experimentale, avînd în vedere rolul deosebit al acestei substanţe ca placă turnantă între metabolismele substanţelor fundamentale, precum şi bogatul echipament enzimatic legat de metabolismul său.

Cuprul, care manifestă o scădere deosebit de semnificativă la animalele ateromatoase, deschide perspectiva unei concepţii mai largi în etiopatologia bolii şi perspectiva unei noi conduite terapeutice.

Coenzima acetilantă (CoA) manifestă o activitate scăzută, indicînd importanţa unui sistem enzimatic major în declanşarea ateromatozei.

În ceea ce priveşte mărirea platoului şi deplasarea spre stînga a curbei hiperglicemiei provocate, această variaţie indică o reactivitate în cursul ateromatozei, modificată pe plan endocrin.

Concluzia generală care se desprinde atît din literatură, cît şi din cercetările noastre este că etiopatogenia ateromatozei este foarte complexă, interesînd, în lumina datelor din lucrarea de faţă: metabolismul lipidelor (colesterolemia şi lipemia totală), proteinelor (azotul total), glucidic (curba hiperglicemiei provocate, acidul piruvic), enzimatic (coenzima acetilantă) şi mineral (cuprul).

Catedra de biochimie,
Institutul medico-farmaceutic, Cluj

Prezentată la redacţie la 17 mai 1960

БИОХИМИЯ АТЕРОМАТОЗА

Сообщение I. БИОХИМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ОПЫТНОГО АТЕРОМАТОЗА

РЕЗЮМЕ

Рассматривая атероматоз как патологическое состояние, многосторонне влияющее на обмен веществ, авторы сделали попытку исследовать биохимизм при опытном атероматозе у кроликов.

С этой целью они проследили за холестеролемией и липидемией для проверки гуморальных изменений и получили данные, соответствующие уже известным в литературе.

Из веществ, участвующих в обмене сахара, авторы проследили за опытной гипергликемией, сходной с легкой формой диабета, а также

за пировиноградной кислотой, содержание которой возрастает в течение 45 дней и нормализируется через 100 дней.

Что касается обмена азотосодержащих веществ, не наблюдается изменений общего содержания аминокислот, тогда как общее количество азота уменьшается.

В энзимах уменьшается количество ацетилирующего коэнзима (АКо).

Авторы обращают внимание на значительное снижение содержания сывороточной меди, наблюдаемое к концу изучаемого периода.

Исследования подтверждают существующие точки зрения, согласно которым при атероматозе изменяется не только обмен липоидов, но и целая сложная биохимическая система; подтверждают энзиматические (АКо) и минеральные (Cu) изменения, а также изменения некоторых этапов обмена сахара (кривая опытной гипергликемии, пировиноградная кислота), обмена протеинов (общий азот). Далее авторами высказывается предположение о возможности периодизации при опытном атероматозе.

LA BIOCHIMIE DE L'ATHÉROMATOSE

Note I. RECHERCHES BIOCHIMIQUES DANS L'ATHÉROMATOSE EXPÉRIMENTALE

RÉSUMÉ

Considérant l'athéromatose comme un état pathologique intéressant un cadre métabolique complexe, les auteurs se sont attachés à en préciser les processus biochimiques, en contrôlant l'installation de l'athéromatose expérimentale, chez le lapin, au cours du temps.

Pour ce faire, ils ont procédé à des déterminations des cholestérolémie et lipidémie, afin de vérifier l'apparition des modifications humorales, les résultats obtenus étant analogues à ceux que l'on trouve dans la littérature.

Pour ce qui est des substances qui participent au métabolisme glucidique, les auteurs ont contrôlé l'hyperglycémie provoquée, dont l'aspect rappelle celui d'un diabète léger, et l'acide pyruvique, dont le taux augmente au 45e jour et revient au normal vers le 100e jour.

En ce qui concerne le métabolisme azoté, l'amino-acidémie globale ne présente pas de modifications, tandis que le taux de l'azote total enregistre des valeurs basses.

Parmi les enzymes, le coenzyme acétylant (CoA) enregistre un taux réduit.

Les auteurs attirent tout spécialement l'attention sur le cuivre sérique, qui manifeste une baisse importante à la fin de la période étudiée.

Les résultats de ces recherches confirment les théories suivant lesquelles la production et l'évolution de l'athéromatose n'intéressent pas uniquement le métabolisme lipidique, mais tout un système biochimique complexe, l'accent portant sur les modifications enzymatiques (CoA), minérales (Cu) ainsi que sur certaines étapes du métabolisme glucidique (courbe de l'hyperglycémie provoquée, acide pyruvique) et du métabolisme protéique (azote total). Ces recherches confirment également l'idée d'une périodicité dans l'installation de l'athéromatose.

BIBLIOGRAFIE

1. A. CANTONE, *Azione preventiva dell'eparina e di alcuni suoi sali e frazioni sull'ateromasia sperimentale nel coniglio.* Raccolta di pubblicazioni chimiche, biologiche e mediche, Ist. Carlo Erba, **II**, 135—181 (1958).
2. N. N. ANICIKOV, Anal. rom-sov., med. gen., *4*, 27—39 (1956).
3. A. KEIS, T. GRANDE. Am. J. of Public. Health in the Nations Health, **47**, *12*, 1523 (1957).
4. F. NICROSINI, Farmaco, Ed. Sc., *2*, 125 (1957).
5. A. MOGA, S. HĂRĂGUŞ, I. SUCIU, I. ORHA, M. BUTNARU, S. CĂPÎLNĂ, Clujul medical, **XXIX**, *2*, 15—32 (1957).
6. ASCHENASY-LELU PAULE, Biotypologie, **XIV**, *1—2*, 13—36 (1953).
7. V. BERONIADE, A. CONDACSE, F. RĂDULESCU, *Lipidele*, Ed. med., Bucureşti, 1960.
8. S. GERŐ, Orvosi Hétilap, **25**, 889—897 (1959).
9. J. PINTO, Bull. Soc. Chim. Biol., **41**, 1679 (1959).
10. A. HITZ, Bioch. Zeitschr., 332, 376 (1960).
11. J. BANGA, Acta physiol. Acad. Sci. Hungar., *3*, 317 (1952).
12. D. BAGDY, J. B. BANGA, Acta Physiol. Acad. Sci. Hungar., **XI**, *3—4*, 371 (1957).
13. D. BAGDY, I. BANGA, M. HORVATH, *Kisérletes orvostudomany*, 1958, 590.
14. J. BÁLO, I. BANGA, D. BAGDY, Magyar Kemiai Folyoirat, **65**, *3*, 89 (1959).
15. J. BÁLO, I. BANGA, Acta Physiol. Acad. Sci. Hungar., *4*, 187—194 (1953).
16. N. N. ANICIKOV, Bibl. Anal. rom.-sov., med., **145**, 3 (1957).
17. I. K. SHAVATABAIA, Bibl. Anal. rom.-sov., med., **145**, 61 (1957).
18. K. K. MASLOVA, Bibl. Anal. rom.-sov., med., **145**, 67 (1957).
19. H. P. KLOTZ, C. BALIER, R. PAIENTE, Bull. et Mem. Soc. Méd. Hôpitaux, *4—5—6*, 92 (1957).
20. L. E. HOLLISTER, S. L. KANTER, Gastroenterology, **29**, *6*, 1069 (1955).
21. L. SIGMUND, M. D. WILENS, G. GALLO, A.M.A. Arch. of Pathology, **64**, 570 (1957).
22. A. J. SERANOVA, Bibl. Anal. rom.-sov., seria medicină, **145**, 15 (1957).
23. F. LYNEN, Fed. Proc., **12**, 683 (1953).
24. I. MANTA, D. BEDELEANU, S. CĂPÎLNĂ, L. MUREŞANU, V. GORUN, *Cercetări biochimice în ateroscleroza experimentală*, Comunicare la a III-a sesiune ştiinţifică a I.M.F., Cluj, 26—28.XI.1959.
25. S. CĂPÎLNĂ, Medicina internă, *4*, 541 (1960).
26. D. KRITCHEVSCHI, A. W. MAYER, W. C. TESAR, R. F. Y. CANDLES, J. B. LOGEN, A. BROWN, M. ENGLERT, The Amer. Journ. of Physiology, **185**, *2*, 279 (1956).
27. P. BALINT, A. HEGEDUS, *Klinikai laboratoriumi Diagnostika*, ed. Müvelt Nép, ed. a II-a, Budapest, 1955, 357.
28. S. CĂPÎLNĂ, V. GORUN, Medicină internă, *1*, 147 (1960).
29. A. FRETWURST, K. MAENCHEN, *Dosages photométriques en Chimie Médicale au moyen du Photomètre Leifo*, ed. E. Leitz Wetzlar.
30. I. MANTA, A. CIPLEA, *Metodele laboratorului clinic*, ed. a II-a, Cluj, 1947, 94.
31. H. JEROME, H. SCHMIDT, Bull. Soc. Chim. Biol., **36**, 1343 (1954).
32. D. GLICK, *Methods of Biochemical Analysis*, Ed. Interscience Publishers, New York, 1955, **2**.

33. P. FLEURY, *Fiches techniques de Chimie Biologique*, ed. Véga, 1955 (fişa Generalités, nr. 5).
34. R. H. S. THOMPSON, E. J. KING, *Biochemical Disorders in Human Disease*, ed. Churchill, London, 1957, 512.
35. Н. Б. МЕДВЕДЕВА, *Нормальная и патологическая физиология жирового и липидного обмена*, 1955.
36. M. G. KRITMAN, M. V. BAVINA, Bibl. Anal. rom.-sov., seria medicină, **145**, 40 (1957).
37. F. LEUTHARDT, *Lehrbuch der Physiologischen Chemie*, ed. a 13-a, W. de Kruyter, Berlin, 1957, 40.
38. M. PERRAULT, F. KIRSCH, Bull. et Mémoires de la Soc. Méd. des Hôpitaux de Paris, *31—32—33*, 1052 (1956).
39. A. TAUSK, *L'Hormone*, Hollande, **XI**, *6*, 1 (1958).

BIOCHIMIA ATEROMATOZEI

NOTA II. REPARTIZAREA ^{32}P ÎN ORGANELE ŞI ŢESUTURILE IEPURILOR ATEROMATOŞI ŞI LA CEI TRATAŢI CU HIDROLIZAT DE PROTEINE (CASAMINĂ)

DE

I. MANTA, D. BEDELEANU, T. C. LAZĂR şi LETIŢIA MUREŞANU

Plecînd de la ideea că în ateromatoză se produc tulburări metabolice şi de permeabilitate complexe [1], ne-am propus să urmărim repartizarea fosforului radioactiv ^{32}P în principalele organe şi ţesuturi la iepurii cu ateromatoză experimentală.

Am ales izotopul ^{32}P pe de-o parte pentru larga participare a compuşilor fosforilaţi la procesele metabolice, iar pe de altă parte pentru utilizarea comodă a acestui izotop radioactiv ca indicator.

Pe baza datelor din literatură [2] şi a cercetărilor noastre anterioare (nota I) care învederează diminuarea metabolismului azotat în ateromatoza experimentală, am considerat indicat să urmărim influenţa hidrolizatului de proteină (casamină) asupra iepurilor ateromatoşi. Acţiunea preparatului a fost apreciată prin testele umorale clasice (colesterolemie, lipemie) şi prin urmărirea repartizării fosforului radioactiv în diferite organe şi ţesuturi.

MATERIAL ŞI METODE

Cercetările s-au întreprins pe 9 iepuri de ambele sexe, avînd greutatea de 2—3,5 kg, împărţiţi în următoarele 3 loturi :

a) Un lot cu ateromatoza instalată cu un regim hiperlipemic-colesterolat (v. nota I).

b) Un lot asemănător injectat zilnic cu 1 ml/kg greutate corporală de hidrolizat de proteine, cu un conţinut de 2,05% N total, preparat de noi [3].

c) Un lot de animale martor, de aceeaşi vîrstă.

Fosforul radioactiv s-a administrat sub formă de $Na_2H\ ^{32}PO_4$ în ser fiziologic i.m., în doză de 50 micro-Curie/kg greutate corporală.

Animalele au fost sacrificate la 4 ore după administrarea izotopului radioactiv. Organele şi ţesuturile studiate (ficat, rinichi, inimă, aortă şi creier) au fost uscate cu hîrtie de filtru şi apoi omogenizate. Din omogenizat s-au pregătit pe ţinte de aluminiu probe, avînd grijă ca greutatea lor să nu depăşească 30—40 mg/cm^2, ceea ce permite evitarea corecţiilor de autoabsorbţie.

Citirea probelor s-a făcut cu contorul Geiger-Müller tip CTC-6, la o instalaţie de numărare şi înregistrare tip B_2.

Colesterolemia s-a determinat pe 1 ml ser, prin metoda Grigaut.

Lipemia totală s-a determinat prin metoda Swann (citat după [4]) modificată [5].

REZULTATE ŞI DISCUŢII

Rezultatele obţinute de noi, privind modificările umorale, sînt trecute în tabela 1, iar repartizarea izotopului radioactiv ^{32}P în organele studiate, este consemnată în tabela 2.

Tabela 1

Modificări umorale la iepurii cu ateromatoză experimentală şi la iepurii trataţi cu hidrolizat de proteine

Lotul	Valoare iniţială		După 2 luni	
	Lipemie mg%	Colesterolemie mg%	Lipemie mg%	Colesterolemie mg%
a) Iepuri cu ateromatoză experimentală instalată, netrataţi	369	335	531	827
b) Iepuri ateromatoşi, injectaţi cu hidrolizat de proteină	426	353	518	378
c) Iepuri martori	304	30	321	46

Tabela 2

Repartizarea fosforului radioactiv în organele şi ţesuturile iepurilor cu ateromatoză experimentală şi ale celor trataţi cu hidrolizat de proteine (valori relative faţă de animalele martor)

Organul	Lotul *a*)	Lotul *b*)	Lotul *c*)
Ficat	67,6	85,2	100
Rinichi	57,1	93,3	100
Inimă	49,5	76,9	100
Aortă	55,0	63,6	100
Creier	80,6	102,1	100

Rezultatele au fost raportate la valoarea martorilor considerată 100% pentru organele similare.

Din analiza rezultatelor obținute prin testele clasice (colesterolemie, lipemie, aprecierea vizuală a lactescenței serului) reiese acțiunea favorabilă a hidrolizatelor de proteină în ateromatoza experimentală. Cercetările noastre dovedesc că în ateromatoza experimentală metabolismul fosforului este diminuat considerabil. Aceasta ne face să admitem, avînd în vedere rolul major al compușilor fosforilați în procesele metabolice, că în ateromatoză se produc modificări biochimice care interesează toate metabolismele, fapt ce reiese și din prima parte a cercetărilor noastre.

Administrarea de hidrolizat proteic (casamină) influențează favorabil repartizarea fosforului în diferitele organe și țesuturi. Aceasta ne-o putem explica prin faptul că unii aminoacizi (glicocol, aspartic, glutamic) amorsează sinteza nucleotidelor libere polifosforilate (adenozin-, guanozin-, citidin- și uridin-trifosfații), iar acestea intervin în sinteza și degradarea lipidelor, protidelor, glucidelor [6], [7].

În afară de aceasta, C l e m e n t (citat după [8]) a arătat că tirozina influențează atît sinteza cît și distrugerea colesterolului.

V. A. E n g e l h a r d t și colaboratori [9] au arătat că în creier fosfoproteidele își schimbă rapid grupările fosforice, iar celelalte componente mult mai încet. După acești autori, remanierea grupărilor fosforice ale fosfoproteidelor este strîns legată de procesele de respirație celulară. Autorii constată că toți factorii care micșorează procesele de respirație din creier scad și încorporarea fosforului anorganic în fosfoproteide.

CONCLUZII

Urmărind repartizarea fosforului radioactiv ^{32}P la iepurii cu ateromatoză instalată, se constată o scădere semnificativă a încorporării în organele studiate (ficat, rinichi, inimă, aortă, creier).

Administrarea hidrolizatelor de proteine (casamină) influențează favorabil modificările umorale din ateromatoză (colesterolemie, lipemie), precum și repartizarea fosforului radioactiv în organele studiate.

Catedra de biochimie,
Institutul medico-farmaceutic, Cluj

Prezentată la redacție la 17 mai 1960

БИОХИМИЯ АТЕРОМАТОЗА

Сообщение II. РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ^{32}P В ОРГАНАХ И ТКАНЯХ АТЕРОМАТОЗНЫХ КРОЛИКОВ ПО СРАВНЕНИЮ С КРОЛИКАМИ, КОТОРЫМ ВВОДИЛИ БЕЛКОВЫЙ ГИДРОЛИЗАТ (КАЗАМИН)

РЕЗЮМЕ

Авторы проследили за распределением ^{32}P в органах кроликов с опытным атероматозом и констатировали значительное снижение его накопления в печени, почках, сердце, аорте, мозгу. Это объясняется глубоким расстройством всех обменов при опытном атероматозе.

Введение белкового гидролизата (казамина) благоприятно действует на гуморальные изменения при атероматозе (холестеролемию, липемию, опалесценцию сыворотки) и приближает к норме распределение ^{32}P в исследованных органах.

LA BIOCHIMIE DE L'ATHÉROMATOSE

NOTE II. LA RÉPARTITION DU ^{32}P DANS LES ORGANES ET TISSUS DES LAPINS ATHÉROMATEUX OU TRAITÉS À L'HYDROLYSAT DE PROTÉINES (CASAMINE)

RÉSUMÉ

On a examiné la répartition du ^{32}P dans les organes des lapins porteurs d'athéromatose expérimentale et l'on a constaté une baisse significative de l'incorporations de cette substance dans le foie, le rein, le cœur, l'aorte et le cerveau. Le fait est regardé comme l'expression d'un dérèglement marqué de tous les métabolismes, au cours de l'athéromatose expérimentale.

L'administration d'hydrolysat de protéines (casamine) exerce une action favorable sur les modifications humorales de l'athéromatose (cholestérolémie, lipidémie, lactescence du sérum) et ramène la répartition du ^{32}P, dans les organes étudiés, vers le normal.

BIBLIOGRAFIE

1. S. GERŐ, Orvosi Hetilap, **25**, 889 (1959).
2. M. G. KRITMAN, M. V. BAVINA, Bibl. Anal. rom.-sov., seria medicină, Bucureşti, *145*, 40 (1957).
3. I. MANTA, D. BEDELEANU, C. BÎCLEŞEANU, M. PÎRVU, V. CONSTANTINESCU, Clujul medical, **XXIX**, *1*, 159 (1957).
4. P. BALINT, A. HEGEDUS, *Klinikai laboratoriumi Diagnostika*, ed. Müvelt Nep, ed. a II-a, Budapest, 1955, 357.
5. S. CĂPĪLNĂ, V. GORUN, Medicina internă, *1* (1960).
6. J. GREGOIRE, Bull. Soc. Chim. Biol., **40**, 767, 1245 (1958).
7. S. BUSCH şi colaboratori, Bull. Soc. Chim. Biol., **40**, 1487 (1958).
8. V. BERONIADE, A. CONDACSE, E. RĂDULESCU, *Lipidele*. Ed. medicală, Bucureşti, 1960, 50.
9. В. А. ЕНГЕЛГАРДТ и сотрудники, Биохимия, **20**, 255 (1955).

REPARTIȚIA APEI ÎNTRE COMPARTIMENTELE EXTRA- ȘI INTRACELULAR ÎN MUȘCHII ROȘII ȘI MUȘCHII ALBI*)

DE

M. D. MEZINCESCU, H. STRUGALI, M. TUDOR și P. PIRCU

Într-o lucrare anterioară [8] am semnalat că mușchii scheletici ai șobolanului diferă considerabil de cei corespunzători ai iepurelui în privința mărimii compartimentelor extra- și intracelular și a distribuției apei între aceste compartimente ; într-adevăr, din datele pe care le prezentam rezulta că în mușchii abductori ai coapsei compartimentul extracelular este mai mare la șobolan decît la iepure cu circa 40 % ; de altă parte, la șobolan el cuprinde 22 % din apa totală a mușchiului iar la iepure numai 15 %.

Ținînd seama de faptul că la șobolan mușchii coapsei sînt constituiți în cea mai mare parte din fibre roșii, pe cînd la iepurele de casă (de care ne-am ocupat) ei sînt constituiți într-o măsură preponderentă din fibre albe, ne-am întrebat dacă deosebirile constatate nu corespund unor deosebiri sistematice dintre cele două feluri de fibre — cu alte cuvinte dacă în mușchii roșii compartimentul extracelular și cantitatea de apă din acest compartiment nu sînt totdeauna mai mari decît în mușchii albi.

În acest articol prezentăm date, stabilite între timp, care par să îndreptățească un răspuns afirmativ. Într-adevăr, ele demonstrează că la găină mușchii roșii ai coapsei cuprind totdeauna o fază fluidă extracelulară mai mare decît mușchii albi ai pieptului, și că proporția apei extracelulare este totdeauna considerabil mai mare în mușchii coapsei decît în mușchii pieptului. Unele date preliminare privind curcanul tind să arate că și la această pasăre situația este aceeași.

METODĂ

Repartiția apei între compartimentele extra- și intracelular și mărimea acestor compartimente au fost stabilite potrivit metodei Hastings-

*) O notă preliminară privind această lucrare s-a publicat anterior [9].

Eichelberger [5], [6]. Aceasta se bazează pe postulatul că clorul din muşchi se află exclusiv in faza extracelulară iar fluidul extracelular este un ultrafiltrat de plasmă; de unde se deduce că mărimea compartimentului (fluid) extracelular, [F], în grame la kilogram de ţesut, este dată de formula

$$[F] = \frac{0{,}95}{0{,}99} \times \frac{[Cl]_t \times D_s \times [H_2O]_s}{[Cl]_s}.$$

În această formulă $[Cl]_t$ este concentraţia clorului în ţesutul degresat, în mval/kg; $[Cl]_s$ este concentraţia clorului în ser, în mval/l; $[H_2O]_s$ este concentraţia apei în ser, în g/kg; D_s este densitatea serului la temperatura camerei. Factorul 0,95/0,99 dă seama de efectul Gibbs-Donnan la nivelul membranei capilare, precum şi de faptul că fluidul extracelular cuprinde circa 1 procent substanţe solide dizolvate. Din mărimea compartimentului fluid extracelular, [F], se deduce cantitatea de apă din acest compartiment, $[H_2O]_F$. Ea reprezintă 99 procente din [F], deoarece 1 parte p. 100 este constituită din substanţele dizolvate. Avem prin urmare $[H_2O]_F = 0{,}99\ [F]$. De altă parte, prin scăderea cantităţii de apă din faza extracelulară, $[H_2O]_F$, din cantitatea totală de apă din ţesut, $[H_2O]_t$, se obţine cantitatea de apă intracelulară, $[H_2O]_c$. Deci

$$[H_2O]_c = [H_2O]_t - [H_2O]_F.$$

Trebuie să se reţină că toate aceste cantităţi ([F], $[H_2O]_F$ etc.) se raportează de obicei — şi sînt raportate şi în această lucrare — la 1 kg ţesut liber de grăsimi*).

În privinţa felului cum s-au făcut dozările necesare pentru stabilirea repartiţiei apei, este suficient să arătăm aici următoarele: pentru dozarea apei şi grăsimilor am procedat cum se arată în lucrarea noastră anterioară [8]. Însă cele mai multe dintre dozările de clor n-au mai fost făcute prin metoda Volhardt-Charpentier, pe ser sau pe extracte de ţesut deproteinizate, ci prin metoda propusă de W. G. Clark şi colaboratori [2], care se bazează pe distilarea izotermă a acidului clorhidric din probe. Acesta este eliberat prin tratarea probelor cu acid sulfuric concentrat şi este absorbit de o soluţie concentrată de hidroxid de sodiu. Ionii Cl^- sînt titraţi apoi cu nitrat mercuric, folosindu-se difenilcarbazona drept indicator. Această metodă este mai comodă şi mai exactă decît cea folosită anterior.

REZULTATE

S-a cercetat muşchiul superficial al pieptului (*M. pectoralis major*) şi muşchii coapsei (*M. tensor fasciae latae* şi *M. biceps femoris*) la 12 găini adulte cu greutăţi de la 1 440 la 2 220 g. Găinile au fost procurate în diferite epoci ale anului şi au fost sacrificate la scurt timp după cumpărare. Ele erau de rase şi vîrste diferite, nedeterminate. Sacrificarea se făcea prin

*) Calculele pe care se bazează metoda Hastings-Eichelberger sînt discutate mai amănunţit în publicaţia noastră anterioară [8].

decapitare. Sîngele se preleva la decapitare, luîndu-se măsuri să nu se contamineze cu cloruri. Mușchii erau prelevați imediat după moartea animalelor. Pentru analize se foloseau părțile mediane ale mușchilor, libere de terminații tendinoase.

Tabela 1

Concentrațiile apei, clorului și lipidelor în ser, mușchii roșii și mușchii albi

Pasăre nr. *)	Plasmă		Mușchii roșii			Mușchii albi		
	$[H_2O]$ g/kg	$[Cl^-]$ mE/l	$[H_2O]$ g/kg	$[Cl^-]$ mE/kg	Lipide g/kg	$[H_2O]$ g/kg	$[Cl^-]$ mE/kg	Lipide g/kg
1 (1 850)	925,0	122,3	733,4	17,9	19,7	692,9	15,9	11,1
2 (1 874)	929,4	118,7	732,0	24,7	52,8	728,6	17,3	12,6
3 (1 855)	912,2	119,3	740,6	22,3	34,1	741,4	21,2	10,5
4 (1 560)	941,0	124,8	747,4	19,7	34,2	738,4	12,4	7,6
5 (1 462)	921,9	118,4	734,1	21,2	28,9	730,4	18,7	7,1
6 (1 600)	921,4	117,4	749,2	19,1	29,9	733,0	17,2	10,7
7 (1 550)	927,6	118,2	759,3	22,5	27,0	744,4	18,0	7,7
8 (1 800)	891,8	118,5	734,1	21,2	36,2	724,6	17,4	10,7
9 (1 800)	935,3	128,0	752,5	19,1	24,3	750,4	13,9	11,6
10 (1 440)	919,5	126,6	717,3	14,8	22,4	692,0	10,1	5,8
11 (1 770)	936,0	124,4	747,4	19,5	42,6	741,7	11,4	10,9
12 (2 220)	931,4	124,3	728,6	22,1	61,3	735,9	13,3	12,4
Medii	923,9	121,7	739,6	20,3	34,4	729,5	15,6	9,06
Deviații standard	12,4	3,59	11,3	2,46	11,9	17,9	3,18	2,30

*) În paranteze, în coloana I, se dau greutățile găinilor (g).

Tabela 2

Repartiția apei în mușchii roșii și mușchii albi

Concentrația globală a apei, $[H_2O]_t$; mărimea compartimentului fluid extracelular, [F]; concentrația apei extracelulare, $[H_2O]_F$; concentrația apei intracelulare, $[H_2O]_C$, în ambele specii de mușchi

Pasăre nr.	Mușchii roșii				Mușchii albi			
	$[H_2O]_t$ g/kg	[F] g/kg	$[H_2O]_F$ g/kg	$[H_2O]_C$ g/kg	$[H_2O]_t$ g/kg	[F] g/kg	$[H_2O]_F$ g/kg	$[H_2O]_C$ g/kg
1	748,2	135,8	134,5	613,7	700,6	119,3	118,1	582,6
2	772,8	200,2	198,2	574,7	737,9	134,7	133,4	604,5
3	766,6	173,0	171,2	595,6	749,3	160,7	159,3	590,0
4	774,0	150,8	149,3	624,6	744,0	92,4	91,5	652,5
5	756,0	167,0	165,4	590,6	735,7	144,0	142,6	593,1
6	772,3	151,8	150,3	622,0	740,9	134,1	132,7	608,2
7	780,8	175,9	174,1	606,6	750,3	139,8	138,4	611,9
8	761,7	162,3	160,6	601,1	732,5	129,9	128,6	603,8
9	771,2	141,1	139,6	631,6	752,2	100,9	99,9	659,2
10	733,7	108,0	106,9	626,8	692,4	72,4	71,6	620,7
11	780,6	150,4	148,9	631,8	749,9	83,2	82,3	667,6
12	776,1	173,5	172,9	603,2	745,1	99,0	98,0	647,1
Medii	766,2	157,5	156,0	610,2	735,9	117,5	116,4	620,1
Deviații standard	13,5	20,2	20,0	17,2	18,6	25,8	26,0	27,9

Pentru fiecare dozare — de apă, de clor, de grăsimi — se foloseau, în general, de la 3 la 6 probe de ser sau din fiecare mușchi, iar la fiecare găină se analizau ambii mușchi simetrici (atît cel stîng cît şi cel drept). Pentru probele de acelaşi fel s-au obținut totdeauna rezultate foarte apropiate. Valorile medii pentru serul, mușchii roşii, şi mușchii albi ai fiecărei

Tabela 3

Diferențele dintre concentrațiile apei totale, fazei extracelulare şi apei intracelulare în ambele specii de mușchi*)

Pasăre nr.	$[H_2O]_t^{MR} - [H_2O]_t^{MA}$ g/kg	$[F]^{MR} - [F]^{MA}$ g/kg	$[H_2O]_c^{MR} - [H_2O]_c^{MA}$ g/kg
1	+47,6	+16,5	+31,1
2	+34,9	+65,5	−29,8
3	+17,5	+12,3	+ 5,6
4	+30,0	+58,4	−27,9
5	+20,3	+23,0	− 2,5
6	+31,4	+17,7	+13,8
7	+30,5	+36,1	− 5,3
8	+29,2	+32,4	− 2,7
9	+19,0	+40,2	−27,6
10	+41,3	+35,6	+ 6,1
11	+30,7	+67,2	−35,8
12	+31,0	+74,5	−43,9
Medii	+30,3	+39,9	−
Deviații standard	8,3	20,6	−

*) În capetele de coloane indicii superiori MR şi MA arată, respectiv, concentrațiile în mușchii roşii şi în mușchii albi.

Tabela 4

Repartiția procentuală a apei totale între compartimentele extra şi intracelular în ambele specii de mușchi

Pasăre nr.	Mușchii roşii		Mușchii albi	
	$[H_2O]_F$ % din $[H_2O]_t$	$[H_2O]_c$ % din $[H_2O]_t$	$[H_2O]_F$ % din $[H_2O]_t$	$[H_2O]_c$ % din $[H_2O]_t$
1	18,0	82,0	16,9	83,1
2	25,6	74,4	18,1	81,9
3	22,3	77,7	21,3	78,7
4	19,3	80,7	12,3	87,7
5	21,9	78,1	19,4	80,6
6	19,5	80,5	17,9	82,1
7	22,3	77,7	18,4	81,6
8	21,1	78,9	17,5	82,5
9	18,1	81,9	13,3	86,7
10	14,5	85,5	10,3	89,7
11	19,1	80,9	11,0	89,0
12	22,3	77,7	13,1	86,9
Medii	20,3	79,7	15,8	84,2
Deviații standard	2,74	2,74	3,45	3,45

găini sînt date în tabela 1. Datele cu privire la repartiția apei, deduse din aceste valori cum s-a arătat mai înainte, sînt consemnate în tabela 2. Diferențele dintre concentrațiile apei totale, fazei extracelulare și apei intracelulare în cele două specii de mușchi, la fiecare pasăre, sînt date în tabela 3. În tabela 4 se dă repartiția procentuală a apei totale între compartimentele extra- și intracelular, pentru ambele specii de mușchi, de asemenea la fiecare pasăre*).

DISCUȚIE

Înainte de a discuta datele pe care le aducem, este necesar să ne ocupăm de unele obiecțiuni ce s-au ridicat în timpul din urmă, mai ales de E. J. Conway [3], împotriva metodei Hastings-Eichelberger, pe care am folosit-o pentru stabilirea repartiției apei în cele două compartimente. Această metodă se bazează pe ideea că ionii Cl^- se află exclusiv în spațiul extracelular, deoarece sînt „pompați" continuu afară din celule sau fiindcă membrana celulară nu este permeabilă pentru ei. Din motive de care este inutil să ne ocupăm, Conway consideră că ionii Cl^- difuzează liber prin membrana celulară și că repartiția lor uniformă între compartimentele extra- și intracelular este împiedicată numai de efectul Gibbs-Donnan la nivelul membranei; însă, din cauza preponderenței anionilor coloidali în celule, acest efect este așa de intens încît cea mai mare parte din ionii Cl^- se află totuși în compartimentul extracelular; așa încît determinarea mărimii acestui compartiment plecîndu-se de la concentrația ionilor Cl^- în țesut rămîne legitimă, dar în locul formulei propuse de Hastings și Eichelberger, de care ne-am folosit, trebuie să se folosească formula

$$[F] = \frac{0{,}8[Cl]_t}{[Cl]_s},$$

stabilită ținîndu-se seama de faptul că o parte din ionii Cl^- se află în compartimentul intracelular. Dacă în formula Hastings-Eichelberger se înlocuiește însă D_s și $[H_2O]_s$ prin valorile lor obișnuite (respectiv, 1,023 și 0,93 pentru găină) formula devine

$$[F] = \frac{0{,}91\ [Cl]_t}{[Cl]_s}.$$

Formula lui Conway este deci foarte apropiată de cea propusă de Hastings și Eichelberger: duce la valori care nu diferă de cele obținute cu ajutorul ultimei formule decît prin factorul 0,88 (= 0,80/0,91). Bineînțeles, folosindu-se formula lui Conway, se obțin pentru mușchii roșii și pentru mușchii albi, valori care se află, unele față de altele, în aceleași raporturi ca valorile corespunzătoare la care conduce formula

*) Pentru motive ce se vor vedea mai departe, n-ar fi legitim să se compare cele două specii de mușchi luîndu-se în considerație numai mediile va'orilor homologe găsite la cele 12 păsări; deci este indispensabil să prezentăm valorile găsite pentru fiecare dintre ele.

Hastings-Eichelberger. Însă principalele concluzii ale acestei lucrări privesc tocmai aceste raporturi (dintre datele pentru muşchii roşii şi cele pentru muşchii albi). Prin urmare, validitatea concluziilor este independentă de controversele în legătură cu distribuţia clorului.

★

Din datele pe care le aducem se vede că la toate găinile cercetate muşchii roşii au cuprins mai multă apă decît cei albi (v. în special tabela 3). Diferenţa dintre concentraţiile medii ale apei în cele două feluri de muşchi este de 30,3 g/kg şi este semnificativă din punct de vedere statistic ($P<0,01$). Faptul că la găină muşchii roşii sînt mai bogaţi în apă decît cei albi pare să fi fost cunoscut; rezultă în orice caz din unele date publicate de N. V. Alexahina [1] (pe care acest autor nu le comentează de altfel).

Datele noastre mai arată că, la aceeaşi pasăre, compartimentul fluid extracelular din muşchii roşii este totdeauna mai mare decît cel din muşchii albi şi cuprinde o proporţie mai mare din apa totală decît acesta din urmă — ceea ce nu s-a semnalat pînă acum, după cît ştim. Diferenţa dintre concentraţiile mijlocii ale fazei extracelulare în cele două feluri de muşchi este de 40,0 g/kg (v. tabela 2); iar diferenţa dintre proporţiile mijlocii ale apei extracelulare este de 4,2 părţi procentuale (v. tabela 4). Ambele diferenţe sînt semnificative din punct de vedere statistic (pentru fiecare, $P < 0,01$). Totuşi se observă că, în timp ce la aceeaşi pasăre faza extracelulară din muşchii roşii este totdeauna mai mare decît cea din muşchii albi, de la o pasăre la alta (în lotul pe care l-am cercetat şi probabil în general) concentraţiile fazelor extracelulare din ambele specii de muşchi variază în limite foarte largi: aproximativ de la simplu la dublu.

Această variabilitate intraspecifică, atît de mare, pare curioasă la prima vedere; vom reveni imediat asupra ei. Mai înainte trebuie să ne întrebăm cum se poate explica diferenţa dintre concentraţiile fazei fluide extracelulare în cele două specii de muşchi*). Presupunem că ea trebuie pusă în legătură cu faptul că muşchii roşii sînt mai bogaţi în materie conectivă decît muşchii albi. Materia conectivă (*endomysium*, *perimysium*) este extracelulară. De aceea, în muşchii roşii, mai bogaţi în materie conectivă, compartimentul extracelular — şi în particular compartimentul fluid extracelular, [F], de care ne-am ocupat — sînt mai mari.

Faptul că muşchii roşii cuprind mai multă materie conectivă a fost semnalat încă în 1881 de A. Danilevsky [4]. Acesta a extras ambele feluri de muşchi (de la numeroase specii, printre care găina, porumbelul şi vrabia) cu soluţie salină diluată şi a constatat că muşchii roşii lasă un reziduu, „die Gerüstsubstanz", mult mai abundent decît cel lăsat de muşchii albi**). Mai recent (în 1933) fac constatări asemănătoare H. H. Weber

*) Datele analitice ne conduc la concluzia că în muşchii roşii faza extracelulară este mai mare, deoarece ele arată că în muşchii roşii concentraţia clorului este mai mare. Însă factorul determinant nu este concentraţia ionilor Cl^-, ci mărimea fazei extracelulare; cu alte cuvinte, în muşchii roşii, ionii Cl^- se găsesc în concentraţie mai mare, deoarece pot difuza într-un compartiment extracelular mai mare.

**) *Gerüstsubstanz* — substanţă de susţinere.

și K. M a y e r [10], care găsesc că la iepure mușchii roșii cuprind de două ori mai multă *stroma* decît mușchii albi. Aceste *Gerüstsubstanz* și *stroma* sînt destul de vag definite din punct de vedere chimic ; se pare că sînt constituite în special din colagen și din elastină, proteine exclusiv extracelulare. Noi singuri am dozat colagenul și elastina în ambele specii de mușchi (la găină), prin metoda propusă de L o w r y și colaboratori [7]*). Rezultatele pe care le-am obținut arată, în mod indubitabil, că mușchii roșii conțin cantități de colagen și de elastină mult mai mari decît cele din mușchii albi.

Dacă ținem seama de împrejurarea că mărimea compartimentului extracelular depinde de abundența țesutului conectiv, variațiile considerabile ale concentrației acestui compartiment de la o pasăre la alta, în ambele specii de mușchi, nu mai par atît de neașteptate. Într-adevăr, este normal să credem că abundența țesutului conectiv este controlată atît de factori genetici cît și de vîrsta păsărilor. Or, cele pe care le-am cercetat erau de rase și vîrste în general deosebite.

Mai par utile două observații în legătură cu datele pe care le prezentăm :

1. Cum surplusul de apă extracelulară din mușchii roșii este, în general, mai mare decît cel de apă totală (v. tabela 3)

$$[F]^{MR} - [F]^{MA} > [H_2O]_t^{MR} - [H_2O]_t^{MA},$$

putem spune că mușchii roșii cuprind mai multă apă decît mușchii albi deoarece cuprind un compartiment extracelular mai mare.

2. În mod constant, mușchii roșii sînt mai bogați în lipide decît mușchii albi. La păsările cercetate, concentrația lipidelor în mușchii roșii a fost, în medie, aproape de patru ori mai mare decît în mușchii albi. Pare probabil că această deosebire, ca și celelalte, este în legătură cu unele caractere specifice, de ordin structural și funcțional, ale ambelor categorii de mușchi.

★

După cum menționam în partea introductivă, am făcut și unele cercetări cu privire la repartiția apei în mușchii albi și roșii ai curcanului. La o pasăre de sex masculin de 5 450 g am cercetat, ca la găină, mușchii coapsei și mușchii pieptului ; iar la o pasăre de 4 950 g, tot de sex masculin, am cercetat mușchii gambei și mușchii pieptului. Rezultatele obținute vor fi publicate ulterior, după ce vom fi cercetat mai multe păsări. Este totuși util să prezentăm de pe acum constatările esențiale :

La amîndoi curcanii, mușchii roșii au cuprins mai multă apă decît mușchii albi : $[H_2O]_t$ a fost pentru primii 782,7 și 766,7, iar pentru cei-lalți, respectiv, 753,4 și 708,3 g/kg.

Compartimentul extracelular a fost mai mare în mușchii roșii la ambele animale : am găsit pentru [F] valorile 115,6 și 118,5 g/kg pentru mușchii roșii, și 100,1 și 84,5 g/kg pentru mușchii albi.

*) Aceasta nu pare foarte mulțumitoare. De aceea, ne propunem să publicăm valorile obținute numai după ce le vom fi verificat cu ajutorul altor metode.

Am aflat în ambele cazuri cantităţi considerabil mai mari de colagen şi de elastină în muşchii roşii.

La o pasăre concentraţia lipidelor în muşchii roşii a fost de trei ori, iar la cealaltă de două ori mai mare decît în muşchii albi.

Este evident că cercetarea muşchilor curcanilor a dus la constatări în totul asemănătoare constatărilor privind muşchii găinii. Împreună cu alte fapte, această împrejurare pare să arate că deosebirile pe care le-am găsit între muşchii roşii şi muşchii albi la aceste două specii au o semnificaţie mai generală.

CONCLUZII

Studiul mărimii compartimentelor extra- şi intracelular şi a repartiţiei apei între aceste compartimente, în muşchii roşii şi muşchii albi ai găinii, au condus la următoarele constatări :

Muşchii roşii cuprind totdeauna, la aceeaşi pasăre, mai multă apă decît muşchii albi. Între concentraţiile apei în aceste specii de muşchi s-a aflat o diferenţă mijlocie de 30,3 g/kg, semnificativă din punct de vedere statistic ($P < 0,01$).

La aceeaşi pasăre compartimentul fluid extracelular din muşchii roşii este totdeauna mai mare decît cel din muşchii albi şi cuprinde o proporţie mai mare din apa totală. Între concentraţiile fazei extracelulare în ambele feluri de muşchi s-a găsit o diferenţă medie de 40,0 g/kg, iar diferenţa mijlocie dintre proporţiile apei extracelulare a fost de 4,2 părţi procentuale. Ambele diferenţe sînt semnificative din punct de vedere statistic ($P < 0,01$ pentru fiecare).

Deşi la aceeaşi pasăre faza extracelulară din muşchii roşii este totdeauna mai mare decît cea din muşchii albi, de la o pasăre la alta concentraţiile fazei extracelulare în ambele specii de muşchi variază în limite largi.

Cercetări preliminare asupra concentraţiei şi repartiţiei apei în muşchii roşii şi albi ai curcanului au condus la constatări esenţialmente similare celor privind muşchii găinii.

Catedra de biochimie I.M.F.,
Bucureşti

Prezentată la redacţie la 10 noiembrie 1960

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ВОДЫ МЕЖДУ ВНЕ- И ВНУТРИКЛЕТОЧНЫМИ ОПРЕДЕЛЕНИЯМИ В КРАСНЫХ И БЕЛЫХ МЫШЦАХ

РЕЗЮМЕ

1. Определялась концентрация воды в красных и белых мышцах у 12 взрослых кур разных пород и возрастов и оценивалась величина жидких вне- и внутриклеточных пространств с помощью метода Хастингс-Айхелбергера, основанного на определение хлора.

2. У одной и той же птицы красные мышцы содержат всегда больше воды, чем белые. Разница между средними концентрациями воды в этих двух видах мышц была в 30,3 г/кг. Она значительнее с статистической точки зрения ($P<0,01$).

3. У одной и той же птицы, жидкое внеклеточное отделение было всегда больше и содержало большее количество общей воды в красных мышцах, чем в белых. Разница между средними концентрациями внеклеточной фазы у этих двух видов мышц была 40,0 г/кг; а разница между средними пропорциями внеклеточной воды была 4,2%. Эти обе разницы довольно значительны ($P< 0,01$ для каждой).

4. Хотя у одной и той же птицы внеклеточная фаза красных мышц была всегда больше белых мышц, концентрации внеклеточной фазы у обоих видов мышц варьировали в широких пределах у разных птиц.

5. Возможно, что жидкая внеклеточная фаза у красных мышц больше, чем у белых, потому что они содержат большее количество соединительного материала, чем другие. Точно также, внутриспецифические изменения величины внеклеточного жидкого отделения у одного и того же вида мышц соответствуют изменениям мышечного состава соединительного материала.

6. Предварительные исследования концентрации и распределения воды в красных и белых мышцах индюка дали одинаковые результаты с полученными на куринных мышцах.

RÉPARTITION DE L'EAU ENTRE LES COMPARTIMENTS EXTRA- ET INTRACELLULAIRE DANS LES MUSCLES ROUGES ET LES MUSCLES BLANCS

RÉSUMÉ

1. On a dosé la concentration de l'eau et évalué la grandeur des phases fluides extra- et intracellulaire, dans les muscles rouges et les muscles blancs de 12 poules adultes, de races et âges divers, par la méthode Hastings-Eichelberger (basée sur le dosage du chlore).

2. Chez un même oiseau, les muscles rouges ont toujours contenu plus d'eau que les muscles blancs. La différence — concluante du point de vue statistique — entre les concentrations moyennes, dans les deux espèces de muscles, a été de 30,3 g/kg ($P < 0,01$).

3. Chez un même oiseau, le compartiment fluide extracellulaire des muscles rouges a toujours été plus grand, et a contenu une plus grande proportion de l'eau totale, que celui des muscles blancs. La différence entre les concentrations moyennes de la phase fluide extracellulaire dans les deux espèces de muscles, a été de 40,0 g/kg, tandis que la différence entre les proportions moyennes de l'eau extracellulaire a été de 4,2 parties procentuelles. Ces différences sont significatives ($P < 0,01$, dans les deux cas).

4. Quoique chez un même oiseau la concentration de l'eau extracellulaire ait toujours été plus grande dans les muscles rouges que dans les muscles blancs, dans les muscles de même espèce elle a varié considérablement d'un oiseau à l'autre et, souvent, les muscles blancs d'un oiseau ont contenu plus d'eau extracellulaire que les muscles rouges d'un autre.

5. Il semble probable que la phase fluide extracellulaire des muscles rouges soit plus grande que celle des muscles blancs parce que les structures connectives (extracellulaires) sont plus abondantes dans les premiers que dans les seconds. De même, les variations intraspécifiques de la grandeur du compartiment fluide extracellulaire paraissent être en rapport avec la teneur des muscles en substances connectives.

6. Des recherches préliminaires sur la concentration et la répartition de l'eau dans les muscles rouges et les muscles blancs du Dindon ont conduit à des constatations similaires à celles concernant la Poule.

BIBLIOGRAFIE

1. ALEXAHINA N. V., Biohimia, **18**, 513 (1953).
2. CLARK W. G., LEVITAN N. I., GLEASON D. F., GREENBERG G., J. biol. Chem., **145**, 85 (1945).
3. CONWAY E. J., Physiol. Rev., **37**, 84 (1957).
4. DANILEVSKY A., Z. physiol. Chem., **7**, 124 (1882/1883).
5. EICHELBERGER L., J. biol. Chem., **128**, 137 (1939).
6. HASTINGS A. B., EICHELBERGER L., J. biol. Chem., **117**, 73 (1937).
7. LOWRY O. H., GILLIGAN D. R., KATERSKY E. M., J. biol. Chem., **139**, 795 (1941).
8. MEZINCESCU M. D., STRUGALI H., Studii şi cercet. de biochimie, **2**, 141 (1958).
9. MEZINCESCO M. D., STRUGALI H., TUDOR M., PIRCU P., C. R. Soc. Biol., **154**, 952 (1960).
10. WEBER H. H., MAYER K., Biochem. Z., **266**, 13 (1933).

NIVELUL EXCREȚIILOR DIURNE DE ARGININĂ ȘI DE GLICOCIAMINĂ

DE

M. D. MEZINCESCU, E. SEREDIUC și P. ROSEN

Creatina tisulară se degradează continuu, transformîndu-se în creatinină. Totuși, în general, cantitatea de creatină din organism nu variază notabil, căci biosinteza și aporturile alimentare compensează pierderile. La bărbatul adult în stare de întreținere, producția endogenă de creatină este foarte bine ajustată nevoilor ; într-adevăr, se formează regulat numai cantitatea strict necesară pentru menținerea concentrației creatinei tisulare, astfel încît nu se excretă creatină și nici nu se degradează creatină neoformată sau din alimente, mai înainte ca ea să fie încorporată în țesuturi. Faptul că organismul tinde să mențină constantă concentrația creatinei din țesuturi, prin controlul sintezei, rezultă din numeroase constatări, unele făcute de multă vreme. Însă ele nu au putut fi interpretate corect decît în urma cercetărilor cu creatină marcată, efectuate de H. D. Hoberman și colaboratori [1]. Acestea au dovedit, printre altele, că creatina exogenă inhibă biosinteza.

Constatarea că producția de creatină este controlată cu strictețe, conduce în mod firesc la întrebarea : care sînt modalitățile controlului ?

Se pot lua în considerație cel puțin două eventualități : organismul controlează prima etapă a biosintezei, reacția de transamidinare dintre arginină și glicocol, care dă naștere la glicociamină ; sau, dimpotrivă, producția de glicociamină depășește totdeauna nevoia iar controlul biosintezei are loc la nivelul celei de a doua etape și constă în limitarea măsurii în care este metilată glicociamina.

Hoberman a constatat că administrarea de creatină determină, o dată cu scăderea producției endogene de creatină, creșterea excreției de glicociamină. El a dedus de aici că inhibiția biosintezei constă într-o împiedicare a metilării, care ar avea drept consecință creșterea cantității de glicociamină din organism și a excreției acestui metabolit. Prin urmare, ritmul biosintezei ar fi determinat de ritmul metilării, cu

alte cuvinte, sinteza ar fi controlată la ultima ei etapă [1]. Însă tot H. D. Hoberman [2], confirmînd că metiltestosteronul determină creşterea producţiei de creatină, arată că după administrarea steroidului, o dată cu producţia de creatină, creşte şi excreţia de glicociamină; iar acest din urmă fapt îl conduce la concluzia că metiltestosteronul influenţează biosinteza creatinei deoarece creşte producţia precursorului ei, glicociamina. Este însă evident că producţia de creatină nu ar trebui să fie influenţată de creşterea producţiei de glicociamină dacă ar fi controlată efectiv de reacţia de metilare.

Această nepotrivire, precum şi alte dificultăţi pe care le ridică interpretarea datelor cunoscute, ne-au îndemnat să reluăm studiul problemei. Pînă acum s-au cercetat, în special, relaţiile dintre producţia de creatină şi cea de glicociamină. Am considerat însă că eventuale relaţii dintre producţia de glicociamină şi abundenţa precursorilor ei în organism ar fi de asemenea semnificative. Ele ar demonstra, în esenţă, că nivelul producţiei de glicociamină nu joacă un rol determinant.

În lucrarea de faţă prezentăm rezultatele obţinute în urma dozării excreţiilor simultane de arginină şi de glicociamină la o serie de persoane sănătoase. După cum se va vedea, între aceste excreţii există o corelaţie pozitivă, ceea ce pare să arate că producţia de glicociamină depinde de concentraţia argininei în sînge.

PARTEA EXPERIMENTALĂ

Arginina şi glicociamina au fost dozate spectrofotometric, cu ajutorul reacţiei lui Sakaguchi. După cum se ştie [3], prin această reacţie se obţin, pentru aceeaşi cantitate de cromogen, cantităţi de substanţă colorantă care scad sistematic cu creşterea concentraţiei de cromogen. De aceea am folosit o tehnică bazată pe extrapolarea extincţiilor la concentraţia egală cu zero a cromogenului, despre care ne-am convins că duce la rezultate corecte [4]. Dozările de glicociamină au fost făcute după metoda descrisă anterior [4]. Pentru dozarea argininei am recurs la procedeul propus de A. A. Albanese şi J. E. Frankstone [5]. Aceşti autori determină într-o probă cantitatea totală de cromogen (arginină + glicociamină), iar într-alta, din care se îndepărtează arginină cu ajutorul permutitului, determină glicociamina, obţinînd concentraţia argininei prin diferenţă. Şi în acest caz, pentru dezvoltarea culorii şi stabilirea extincţiilor semnificative, am folosit propria noastră metodă [4].

Am analizat probe proaspete din urina emisă în 24 ore de 65 persoane: bărbaţi, femei şi copii de diferite vîrste, sănătoşi sau fără nici un fel de afecţiuni ce ar fi putut determina tulburări ale excreţiei renale sau ale metabolismului creatinei şi precursorilor ei. În epocile în care s-au recoltat probele de urină, aceste persoane se hrăneau cu raţii mixte obişnuite. La unele persoane dozările au fost repetate la intervale variabile, în general de cîteva săptămîni, însă uneori şi mai mari.

Rezultatele obţinute sînt consemnate în tabela alăturată, împreună cu datele esenţiale privind persoanele cercetate.

Tabelă

Excreţiile diurne simultane de arginină şi de glicociamină

Subiect nr. *)	Sex	Vîrstă ani	Arginină mg/24 ore	Glicociamină mg/24 ore
1	2	3	4	5
1	m	36	0,54	43,4
2	f	38	7,45	120,4
3 I	,,	31	5,24	48,8
3 II	,,	,,	13,9	63,4
4 I	m	47	14,6	52,5
4 II	,,	,,	1,77	85,6
5	—	—	2,14	38,5
6	—	20	10,9	44,1
7 I	f	45	13,9	65,2
7 II	,,	,,	6,12	68,7
7 III	,,	,,	9,31	68,7
8	,,	64	10,1	39,8
9 I	,,	36	21,5	68,5
9 II	,,	,,	30,9	93,9
9 III	,,	,,	25,8	85,0
10 I	,,	49	32,5	109,2
10 II	,,	,,	5,04	48,9
10 III	,,	,,	48,6	90,1
10 IV	,,	,,	14,3	54,9
11 I	m	50	17,2	89,5
11 II	,,	,,	25,5	74,3
11 III	,,	,,	21,8	57,7
12	f	26	37,0	90,9
13	m	30	19,8	54,6
14 I	f	—	28,6	69,3
14 II	,,	—	21,5	64,4
15	,,	—	8,56	25,5
16 I	,,	—	15,4	46,1
16 II	,,	—	14,0	48,9
17 I	,,	—	3,26	16,6
17 II	,,	—	15,2	17,7
18 I	,,	—	9,19	34,9
18 II	,,	—	15,8	30,8
19 I	m	—	10,3	36,4
19 II	,,	—	7,38	38,1
20	f	—	4,98	27,2
21 I	m	—	22,9	60,8
21 II	,,	—	9,99	49,9
22 I	f	—	22,9	60,8
22 II	,,	—	39,9	118,3
23	,,	—	37,0	99,7
24	,,	—	9,91	28,7
25	,,	—	41,1	95,4
26 I	m	—	12,5	33,1
26 II	,,	—	16,1	46,7
27	,,	—	18,8	68,8

*) Simbolurile de felul 3 I şi 3 II (sau 7 I, 7 II şi 7 III etc.) desemnează aceeaşi persoană, de la care s-au colectat mai multe probe de urină excretată în 24 ore.

Tabelă

(continuare)

Subiect nr. *)	Sex	Vîrstă ani	Arginină mg/24 ore	Glico-ciamină mg/24 ore
1	2	3	4	5
28	f	—	23,6	55,9
29	,,	37	20,9	86,9
30	,,	—	12,7	44,0
31	m	29	7,47	104,6
32	f	—	27,6	79,9
33	m	—	2,84	44,3
34	,,	—	10,0	91,3
35 I	f	5	13,0	20,9
35 II	,,	,,	9,37	32,2
36 I	,,	6,5	18,8	32,7
36 II	,,	,,	14,7	32,5
36 III	,,	,,	5,61	34,8
37 I	m	3,5	11,3	23,6
37 II	,,	,,	10,5	56,5
38 I	f	2,5	19,6	47,0
38 II	,,	,,	8,55	32,3
39	m	1,5	5,15	19,9
40 I	,,	7	18,3	42,7
40 II	,,	,,	15,0	47,5
41	f	5	48,8	96,7
42	,,	4,5	20,4	65,4
43	m	2,5	11,4	67,9
44	,,	15	56,7	126,0
45	f	2,5	15,5	73,4
46	,,	—	22,6	66,2
47	,,	—	41,2	177,4
48 I	m	20	42,0	140,9
48 II	,,	,,	36,2	110,1
49	,,	29	36,4	102,7
50	,,	26	40,7	68,4
51	f	30	39,3	98,0
52	m	37	39,3	159,7
53	,,	26	1,10	45,2
54	,,	61	14,3	47,5
55	f	41	16,1	40,0
56	m	46	17,3	136,0
57	f	32	6,38	105,3
58	,,	51	39,7	101,9
59	m	47	20,6	75,8
60	,,	17	35,9	78,8
61	,,	15	24,5	83,9
62	,,	12	7,56	64,1
63	,,	13	49,2	65,7
64	,,	11	21,4	65,2
65	,,	17	28,0	45,0
Medie			19,4	65,7
Deviația standard			±12,7	±32,5

Menționăm că, o dată cu excrețiile de arginină și de glicociamină, am dozat și azotul total eliminat prin urină în 24 ore. Socotim însă inutil să reproducem datele în această privință, căci între excreția totală de azot și cele de arginină și glicociamină nu se constată relații semnificative.

DISCUȚIE

1. Nivelul excreției de arginină. Excrețiile diurne sînt cuprinse între 0,54 și 56,7 mg. Media tuturor valorilor este de 19,4 mg/24 ore, însă ea nu este prea semnificativă, deoarece valorile prezintă o foarte slabă tendință centrală (deviația standard este de ± 12,7). Pare mai util să se rețină că, în principiu, 68,3% din valori sînt cuprinse între 6,7 și 32,1 mg.

În privința excreției urinare de arginină se găsesc în literatură date destul de diferite. A. A. Albanese și J. E. Frankstone [5], utilizînd metoda lor, au aflat la 37 bărbați excreții diurne cuprinse între 50 și 150 mg; de altă parte, valorile găsite de K. Motegi [6], care folosește aceeași metodă, sînt cuprinse într-un interval foarte apropiat: 22—118 mg/24 ore. Însă Hoberman [7] a criticat metodele conducînd la asemenea valori, pe care le socotește mult prea mari. Analizînd cu o metodă proprie urinele a 10 bărbați, acest autor a găsit în toate cazurile concentrații în arginină mai mici decît 15 mg/l (cărora le corespund probabil excreții diurne de cel mult circa 30 mg). Au găsit de asemenea excreții mici și autorii care au folosit metode moderne susceptibile de puține obiecțiuni: spre exemplu, H. H. Woodson și colaboratori [8] care găsesc excreții de circa 24 mg/24 ore cu ajutorul unei metode microbiologice și W. H. Stein [9] care stabilește prin cromatografie pe coloană că excrețiile diurne a 7 persoane adulte sînt mai mici de 10 mg*).

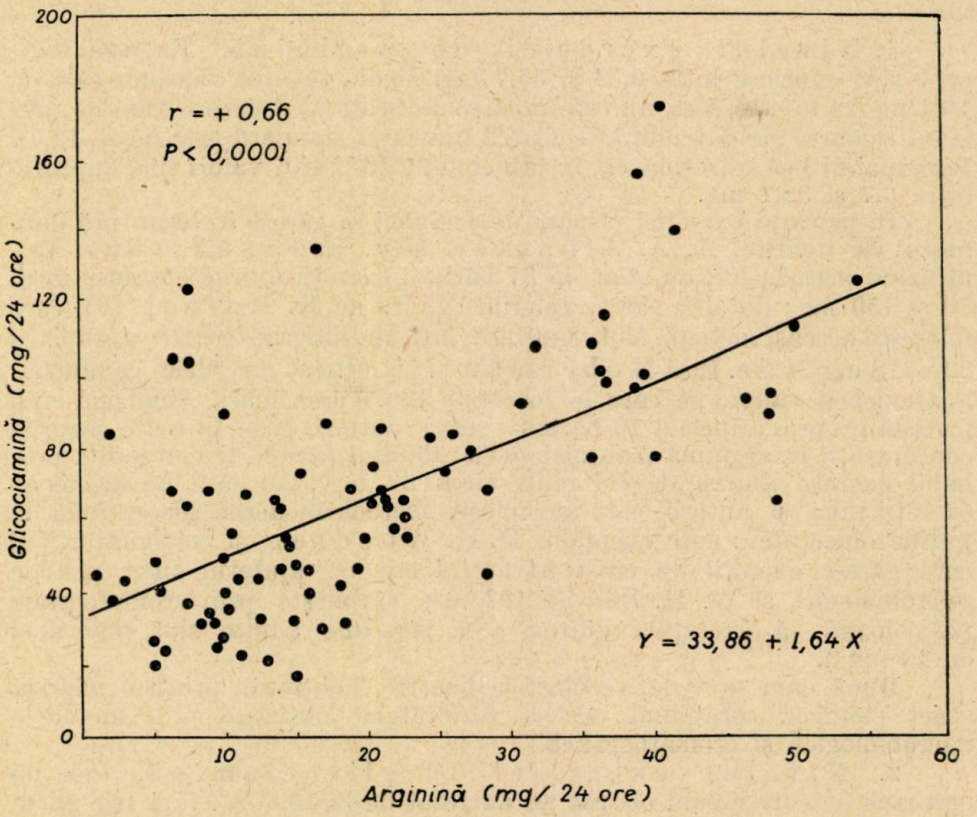
După cum se vede, rezultatele noastre, obținute printr-o metodă strict chimică, corespund perfect rezultatelor obținute prin metodele microbiologică și cromatografică.

2. Nivelul excreției de glicociamină. Cele 65 persoane de care ne-am ocupat au excretat de la 16,6 la 177,4 mg glicociamină în 24 ore; în medie 65,7 mg. Însă și în acest caz deviația standard a distribuției valorilor este foarte mare (±32,5), astfel încît sînt mai semnificative decît media, valorile care definesc intervalul medie ± deviație standard: 33,2 și 98,2 mg/24 ore.

Excreția de glicociamină a fost mai puțin studiată. De fapt, singurele date semnificative pe care le-am aflat în literatură sînt cele publicate de H. Borsook și colaboratori [10], în legătură cu studiile lor asupra biosintezei creatinei, o serie de date stabilite de Hoberman [7], precum și datele publicate de Motegi [6]. Din lucrarea lui Borsook [10], se poate deduce că excrețiile diurne de glicociamină a 6 persoane

*) Stein menționează că metoda pe care a folosit-o nu îngăduie să se recupereze arginina cantitativ. Totuși excrețiile reale nu pot fi cu mult mai mari.

adulte supuse la inaniţie azotată au fost cuprinse între 50 şi 80 mg, şi că aceleaşi persoane au excretat de la 90 la 150 mg/24 ore în zilele cînd consumau cîte 65 g caseină. H o b e r m a n constată că urinele a 10 bărbaţi adulţi conţin glicociamină în concentraţii de la 67 la 106 mg/l, ceea ce înseamnă că excreţiile diurne de glicociamină ale acestor persoane erau cuprinse, probabil, între 40 şi 200 mg. Putem spune, prin urmare, că rezultatele noastre sînt asemănătoare cu cele aflate de aceşti autori.



Limita superioară a excreţiilor stabilite de M o t e g i este însă notabil mai mică : numai 67 mg/24 ore.

3. V a r i a ţ i i l e e x c r e ţ i i l o r c u s e x u l, v î r s t a ş i n i v e l u l i n t r ă r i l o r d e a z o t. Datele din tabelă dovedesc că excreţiile de glicociamină şi de arginină nu prezintă nici un fel de variaţii sistematice cu sexul şi cu vîrsta : adesea se află la femei excreţii mai mari decît la bărbaţi, iar la copii mai mari decît la adulţi. De altă parte, se găsesc frecvent excreţii diurne mult deosebite, atît de arginină cît şi de glicociamină, la aceeaşi persoană (însă, în general, excreţia de glicociamină este mai stabilă decît excreţia de arginină). Este de notat că şi

Albanese și Frankstone [5] au constatat la aceeași persoană variații diurne considerabile ale excreției de arginină.

Variațiile excreției de glicociamină și de arginină nu depind de nivelul consumului de proteine. Aceasta rezultă din datele obținute cu privire la excreția diurnă de azot total, pe care nu le mai reproducem. Menționăm că nu există nici o incompatibilitate între această concluzie și constatările făcute de Borsook și colaboratori [10], citate mai sus. Într-adevăr, acești cercetători găsesc creșteri ale excreției de glicociamină în împrejurări cu totul speciale : atunci cînd persoanele studiate trec de la o alimentație complet lipsită de azot la o alimentație cuprinzînd cantități considerabile de cazeină, care este deosebit de bogată în glicocol și arginină, precursorii glicociaminei.

4. Corelația dintre excreția de arginină și de glicociamină. Existența corelației este demonstrată imediat de diagrama de puncte din figură, în care sînt reprezentate toate perechile de valori obținute (excreția argininei în abscisă și excreția glicociaminei în ordonată). Coeficientul de corelație, r, are valoarea considerabilă de + 0,66. Evaluarea probabilității ca coeficientul de corelație să fie întîmplător arată că aceasta este extrem de mică : mai mică decît 0,0001 ($t = 8{,}31$).

Potrivit interpretării celei mai obișnuite, coeficientul de corelație precizează măsura în care fenomenele corelate sînt supuse aceluiași determinism. Trebuie să înțelegem, prin urmare, că nivelul excreției de glicociamină este determinat în măsura de circa 66 % de aceleași cauze care determină nivelul excreției de arginină. Excrețiile diurne ale ambelor substanțe depind însă imediat de concentrațiile lor în sînge, astfel încît ajungem la concluzia că concentrația glicociaminei în sînge este determinată în măsură de circa 66 % de concentrația argininei*).

---

*) Raționamentul care conduce la această concluzie poate fi schițat în felul următor : Să presupunem că coeficientul de corelație dintre cele două excreții este egal cu unitatea ($r = 1$). În acest caz putem scrie

$$G_{\text{debit}} = k \times A_{\text{debit}},$$

unde G_{debit} și A_{debit} reprezintă excrețiile diurne simultane de glicociamină și de arginină, iar k este un factor de proporționalitate.

Pe de altă parte

$$A_{\text{debit}} = F_A([A]_s),$$

$$G_{\text{debit}} = F_G([G]_s),$$

expresii în care simbolurile F_A și F_G reprezintă funcții univoce, respectiv, a concentrației argininei în sînge, $[A]_s$, și a concentrației glicociaminei în sînge, $[G]_s$.

Din cele trei ecuații deducem însă

$$[G]_s = \Phi([A]_s).$$

Prin urmare, dacă excreția de glicociamină ar fi proporțională cu excreția de arginină ($r=1$), concentrația glicociaminei în sînge ar fi o funcție univocă a concentrației argininei ; iar în cazul nostru, cînd $r=0{,}66$, ea este determinată de nivelul argininemiei în măsură de circa 66 %.

Această concluzie este deosebit de semnificativă din punctul nostru de vedere, căci nu poate fi socotită compatibilă cu ideea că nivelul producţiei de creatină ar fi determinat de nivelul producţiei de glicociamină.

Într-adevăr, dacă producţia de glicociamină ar fi în raporturi univoce în acelaşi timp cu producţia de arginină şi cu cea de creatină, ar însemna că nivelul producţiei de creatină depinde de nivelul producţiei de arginină, ceea ce nu se poate admite, deoarece producţia de arginină este în legătură cu numeroase procese metabolice şi, tocmai din această cauză, eminamente variabilă (este în legătură, spre exemplu, cu producţia de uree, care depinde ea singură de conţinutul raţiei în proteine).

Prin urmare, corelaţia pe care am constatat-o trebuie interpretată drept o dovadă că biosinteza creatinei nu este controlată de nivelul producţiei de glicociamină, ceea ce înseamnă că este controlată de ritmul metilării, aşa cum a dedus H o b e r m a n din primele lui cercetări [1].

CONCLUZII

Determinarea excreţiilor diurne de arginină şi de glicociamină la 65 persoane (bărbaţi, femei şi copii de diferite vîrste) a condus la următoarele constatări:

Excreţiile de arginină au fost cuprinse între 0,54 şi 56,7 mg/24 ore. Ele nu prezintă decît o foarte slabă tendinţă centrală (excreţia medie = = 19,4 mg/24 ore, deviaţia standard a distribuţiei = $\pm$ 12,7 mg).

Pentru excreţia diurnă de glicociamină s-au găsit valori cuprinse între 16,6 şi 177,4 mg. Aceste valori sînt de asemenea foarte dispersate: media lor este de 65,7 mg/24 ore iar deviaţia standard a distribuţiei este de $\pm$ 32,5 mg.

Atît excreţia de arginină cît şi cea de glicociamină nu prezintă variaţii sistematice cu sexul şi cu vîrsta, astfel încît dispersia valorilor din fiecare grup nu este în legătură cu aceşti factori.

Excreţiile diurne ale ambilor metaboliţi, aflate la aceeaşi persoană la diferite intervale de timp, sînt adesea mult deosebite.

Între excreţiile de arginină şi de glicociamină există o corelaţie strînsă, foarte semnificativă din punct de vedere statistic: r, coeficientul de corelaţie dintre cele două serii de valori, este + 0,66, iar probabilitatea ca el să fie întîmplător este mai mică decît 0,0001.

Catedra de biochimie I.M.F.,
Bucureşti

Prezentată la redacţie la 10 noiembrie 1960

УРОВЕНЬ ДНЕВНЫХ ВЫДЕЛЕНИЙ АРГИНИНА И ГЛИКОЦИАМИНА

РЕЗЮМЕ

Определялись дневные выделения аргинина и гликоциамина у 65 лиц (мужчины, женщины и дети). Выделения аргинина колебались между 0,54 и 56,5 мг/24 ч.

Они имеют только очень слабую центральную тенденцию (среднее выделение — 19,4 мг, стандартное отклонение распределения ± 12,7 мг).

Для дневного выделения гликоциамина были найдены значения между 16,6 и 177,4 мг. Эти значения также являются весьма различными; среднее 65,7 мг, а стандартное отклонение распределения ± 32,5 мг. Выделение аргинина и гликоциамина не связано с половыми или возрастными факторами, поэтому различные показатели в каждой группе не зависят от этих факторов. Дневные выделения обоих метаболитов у каждого лица в разных промежутках времени бывают иногда различными.

Между выделениями аргинина и гликоциамина существует известное соотношение, являющееся значительным с статистической точки зрения: r — коэффициент соотношения между двумя видами значений + 0,66, а вероятность его случайности меньше, чем 0,0001.

LE NIVEAU DES EXCRÉTIONS DIURNES D'ARGININE ET DE GLYCOCYAMINE

RÉSUMÉ

On a dosé les excrétions diurnes d'arginine et de glycocyamine chez 65 personnes (hommes, femmes et enfants).

Les excrétions d'arginine ont été comprises entre 0,54 et 56,5 mg/24 heures, et ne présentent qu'une très faible tendance centrale (excrétion moyenne : 19,4 mg ; déviation standard de la distribution : ± 12,7 mg). Pour l'excrétion diurne de glycocyamine, on a trouvé des valeurs comprises entre 16,6 et 177,4 mg. Ces valeurs aussi sont très dispersées : leur moyenne est de 65,7 mg et la déviation standard de la distribution est de ± 32,5 mg.

Les excrétions d'arginine, aussi bien que celles de glycocyamine, ne présentent pas de variations systématiques avec le sexe et l'âge ; d'où il s'ensuit que la dispersion des valeurs de chaque groupe n'est pas en rapport avec ces facteurs. Les excrétions diurnes des deux métabo

lites, trouvées chez une même personne lors d'analyses répétées à des intervalles variables, ont souvent été très différentes.

Entre les excrétions simultanées d'arginine et de glycocyamine il existe une corrélation considérable, hautement significative au point de vue statistique. Le coefficient de corrélation entre les deux séries de valeurs, r, est de $+ 0{,}66$ et la probabilité qu'il soit fortuit est inférieure à 0,0001.

BIBLIOGRAFIE

1. H. D. HOBERMAN, E. A. H. SIMS, J. H. PETERS, J. Biol. Chem., **172**, 45 (1948).
2. H. D. HOBERMAN, E. A. H. SIMS, W. W. ENGSTROM, J. Biol. Chem., **173**, 111 (1948).
3. M. D. MEZINCESCU, V. V. CIOCÎLTEU, P. ROSEN, Bul. ştiinţ. Acad. R.P.R., seria şt. med., *1*, 799 (1949).
4. — Studii şi cercet. de biochimie, *2*, 373 (1959).
5. A. A. ALBANESE, J. E. FRANKSTONE, J. Biol. Chem., **159**, 185 (1945).
6. K. MOTEGI, Journ. Japan. Biochem. Soc., **22**, 92 (1950); după Chem. Abstr., **45**, 1672 f (1951).
7. H. D. HOBERMAN, J. Biol. Chem., **167**, 721 (1947).
8. H. H. WOODSON, S. W. HIER, J. D. SOLOMON, O. BERGEIM, J. Biol. Chem., **172**, 616 (1948).
9. W. H. STEIN, J. Biol. Chem., **201**, 45 (1953).
10. H. BORSOOK, J. W. DUBNOFF, J. H. LILLY, W. MARRIOTT, J. Biol. Chem., **138**, 405 (1941).

MODIFICĂRILE ACIZILOR NUCLEICI DIN ȚESUTURI SUB ACȚIUNEA DOZELOR MARI DE CITOSTATICE

DE

O. COSTĂCHEL, M. FURNICĂ și P. TĂUTU

Numeroase lucrări efectuate în ultimii 10—15 ani au atras atenția asupra faptului că acțiunea substanțelor citostatice se exercită în special asupra sistemelor biochimice legate de sinteza acizilor nucleici. Încă din 1946 s-a putut observa că aceste substanțe produc asupra unei soluții diluate de ADN aceleași efecte ca și radiațiile ionizante, scăderea viscozității [1]. În momentul în care s-a constatat acțiunea mutagenă a citostaticelor, relația lor cu ritmul sintezei de ADN a fost sprijinită și pe datele obținute *in vivo*.

Alte lucrări efectuate pe macromolecule sintetice și naturale au stabilit mecanismul alchilării și grupările reactive care asigură realizarea acestui mecanism [2]. Este cunoscut astăzi faptul că agenții alchilanți bifuncționali, în special cei care au o încărcare electrică pozitivă, reacționează cu un polimer încărcat negativ (cum ar fi ADN), esterificînd grupările fosforice ale acizilor nucleici, alchilarea purinelor fiind o reacție secundară. În afară de acest mecanism direct, cercetări mai recente arată acțiunea citostaticelor asupra sistemelor enzimatice care asigură ritmul normal de sinteză a acizilor nucleici și producerea energiei intracelulare [3].

Cu toate acestea, considerăm că nu sînt studiate suficient, ritmul și mecanismul prin care sinteza acizilor nucleici revine sau are tendința să revină la normal, după administrarea de substanțe citostatice. Acest fenomen nu poate fi studiat decît prin utilizarea unor doze *toxice* de citostatice, mai ales că, *in vivo*, efectul inhibitor asupra acizilor nucleici ar putea evidenția mai ușor și diferențele de acțiune existente între agenții alchilanți. Ne-am propus deci să realizăm acest model experimental tocmai pentru a observa gravitatea leziunii biochimice produse de unele citostatice în splina și ficatul șobolanilor, manifestată prin ritmul de scădere a acizilor nucleici,

încercînd să demonstrăm în acelaşi timp dependenţa rezultatelor obţinute de structura chimică a agenţilor alchilanţi şi de componentul asupra căruia îşi exercită acţiunea (ARN sau ADN). Dozele de citostatice utilizate au fost doze toxice, letale [4], care produc moartea animalelor după 5 sau 14 zile de la administrare.

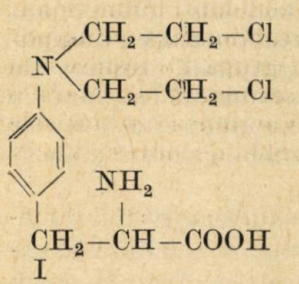
PARTEA EXPERIMENTALĂ

Experienţele au fost efectuate pe 120 şobolani albi, de greutate variind între 120—150 g, împărţiţi în 6 loturi: I — 20 şobolani normali; II — 25 şobolani injectaţi intraperitoneal cu L — sarcolizină în doză de 22,5 mg/kg corp; III — 15 şobolani injectaţi intraperitoneal cu L-sarcolizină în doză de 50 mg/kg corp; IV — 25 şobolani injectaţi intraperitoneal cu TEM în doză de 1 mg/kg corp; V — 15 şobolani injectaţi intraperitoneal cu TEM în doză de 2 mg/kg corp; VI — 20 şobolani injectaţi intraperitoneal cu TSPA în doză de 12 mg/kg corp.

Animalele de experienţă au fost sacrificate prin decapitare după 1, 2, 3, 5 şi 8 zile de la administrarea citostaticului, intervale la care în lucrări anterioare s-au observat modificări importante ale numărului de leucocite [5] şi ale acizilor nucleici [6], [7], [8], sub acţiunea radiaţiilor ionizante.

Am determinat acizii nucleici din ficat şi splină, efectuînd extragerea după metoda Schneider (cu acid tricloracetic 5% la 90°) şi dozarea spectrofotometrică, pentru ARN cu orcină şi pentru ADN cu difenilamină.

Acţiunea L-sarcolizinei. Sarcolizina utilizată de noi a fost derivatul levogir al *p*-(bis-β-cloretil)-aminofenilalaninei (I), sintetizat în laboratorul de chimie organică al Institutului oncologic.



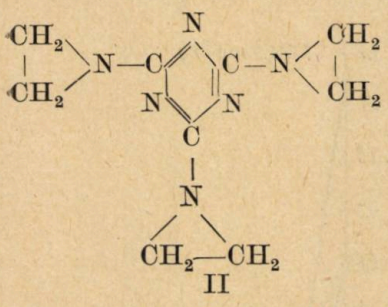
I

Am folosit derivatul levogir, deoarece unii autori consideră că acesta prezintă o activitate antitumorală mai mare decît izomerul dextrogir, deşi ambii izomeri exercită o acţiune toxică egală asupra măduvei osoase [9].

Administrarea L-sarcolizinei în doză de 22,5 mg/kg corp, reprezentînd LD 100/15 (fig. 1), produce asupra ARN din ficat o scădere avînd două minime: primul se observă în ziua a 2-a, al doilea în ziua a 8-a (42% inhibiţie); în splină ARN scade după 24 ore, aceeaşi cantitate redusă menţinîndu-se pe tot intervalul studiat. ADN scade treptat pînă la moartea animalelor, în ambele organe studiate.

Injectată în doză de 50 mg/kg corp (LD 100/5), sarcolizina accelerează şi accentuează scăderea acizilor nucleici din ficat şi splină după 24 ore (fig. 2). Şi în acest caz se observă că acizii nucleici din ficat sînt mai puţin influenţaţi decît cei din splină.

Acţiunea TEM. TEM-ul sau trietilenmelamina (2,4,6-trietilenimino-1,3,5-triazina) utilizată este produs „HOECHST" şi corespunde formulei II.



II

Acţiunea sa asupra acizilor nucleici a variat în funcţie de doza administrată. Doza de 1 mg/kg corp (fig. 3), care reprezintă LD 100/15, produce asupra ARN din ficat variaţii ce se pot înscrie pe o curbă cu un maxim în ziua a 2-a—3-a şi altul în ziua a 8-a şi cu un minim în ziua a 5-a. În splină se observă o creştere a ARN în ziua a 8-a. ADN din ficat scade mai puţin după 24 ore şi mai mult în ziua a 5-a, iar în splină se observă o scădere foarte puternică după 2 şi 3 zile, după care cantitatea de ADN începe să crească.

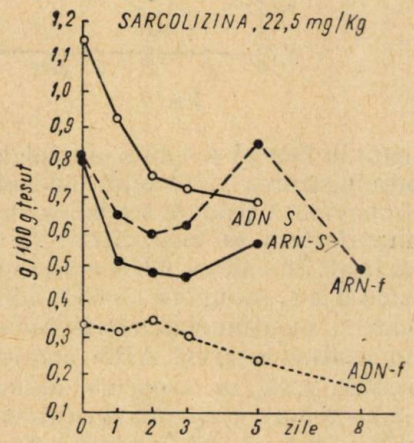


Fig. 1

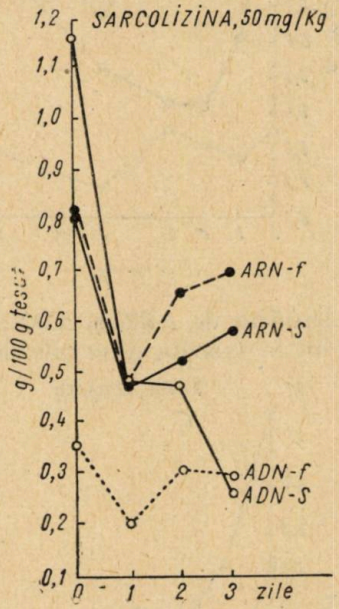
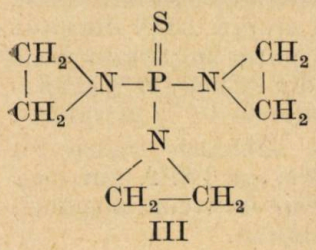


Fig. 2

Dublarea dozei de TEM (fig. 4), reprezentînd LD 100/5, produce o scădere foarte evidentă a acizilor nucleici din splină după 24 ore şi din ficat mai ales după 2 zile. Se observă că sub acţiunea acestei doze se împiedică refacerea ADN din splină, dar nu şi a ADN din ficat.



III

Acţiunea TSPA. TSPA este trietilentiofosforamida (III), sintetizată în laboratorul de chimie organică al Institutului oncologic, Bucureşti.

Această substanţă, administrată la şobolani în doză de 12 mg/kg corp, produce moartea tuturor animalelor după 5 zile de la administrare (fig. 5).

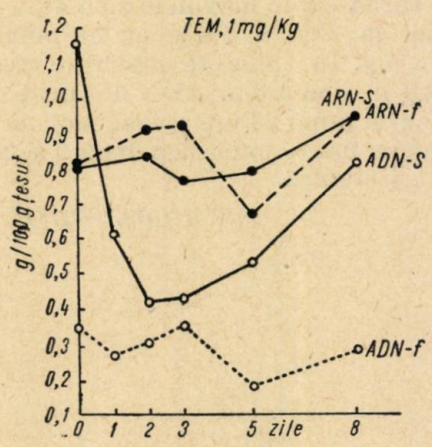


Fig. 3

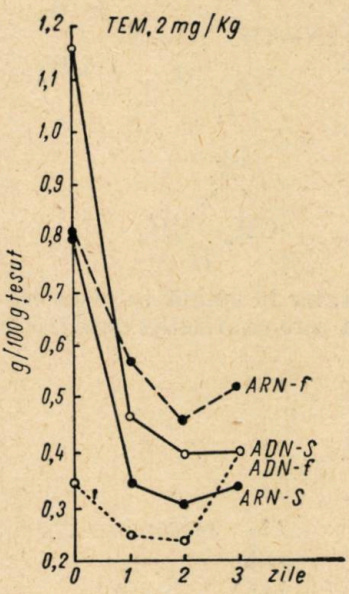


Fig. 4

Dozările de ARN şi ADN, efectuate în ficatul şi splina animalelor din acest lot la diferite intervale de la administrarea substanţei, au arătat o importantă scădere a acizilor nucleici, manifestată în mod diferit în splină şi ficat. În splină, ARN scade pînă în ziua a 2-a, ajungînd la 53% inhibiţie care se menţine şi în următoarele zile; în acelaşi interval ADN continuă să scadă pînă la moartea animalelor (ziua a 5-a), ajungînd la o inhibiţie de 63%. În ficat, ARN apare scăzut numai la 24 ore de la administrare (42% inhibiţie), după care se observă o tendinţă de refacere a cantităţii iniţiale. Efectul TSPA asupra ADN din ficat este mult mai puţin important decît asupra ADN din splină (26% inhibiţie în ficat, faţă de 63% în splină).

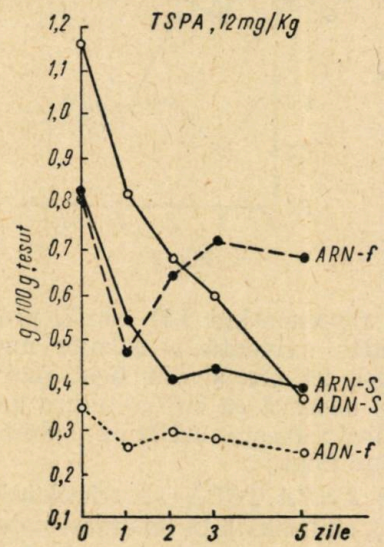


Fig. 5

La toate animalele tratate cu sarcolizină, TEM sau TSPA am constatat o micşorare de volum a splinei, dar nu şi a ficatului.

DISCUŢII

Din datele prezentate reies mai multe aspecte care trebuie lămurite. În primul rînd este vorba de o sensibilitate diferită a celor două tipuri de acizi nucleici la citostatice, efectul inhibitor manifestîndu-se cu predilecţie asupra ADN, la fel ca în cazul acţiunii radiaţiilor ionizante. S-ar putea ca în mecanismul de inhibiţie al sintezei ADN să aibă loc o scădere a transformării ribozei în desoxiriboză, analogă cu cea observată de J. S. Mitchell [10] la iradiere, avînd ca rezultat blocarea sintezei ADN şi acumularea ribonucleotidelor în celulă. Oricare ar fi însă mecanismul de inhibiţie, se consideră azi că inhibiţia nu reprezintă efectul primar al acestor agenţi, ci o consecinţă a leziunii proceselor energetice.

Variaţiile acizilor nucleici din ţesuturi ne permit a pune în evidenţă o sensibilitate diferită a ţesuturilor la radiomimetice. Această sensibilitate se manifestă prin gradul de scădere al acizilor nucleici, diferit în ficat şi splină. În general se constată în ficat o tendinţă de refacere, în timp ce în splină scăderea acizilor nucleici continuă pînă la moartea animalelor. Sensibilitatea crescută a acizilor nucleici ai splinei faţă de citostatice aminteşte de sensibilitatea lor recunoscută la radiaţii, completînd astfel cunoştinţele noastre în legătură cu analogia de răspuns a ţesuturilor la radiaţii şi radiomimetice. Faptul că ADN din splină este mai sensibil la acţiunea radiaţiilor decît ADN din ficat îşi găseşte explicaţie în diferenţa de ritm mitotic a celor două ţesuturi. Cercetările lui L. G. Lajtha şi colaboratori [11], [12] au arătat că sinteza ADN în celulă are loc într-o anumită perioadă de interfază şi că perioada de repaos (G_1) care precede sinteza ADN este mai sensibilă la iradiere decît perioada sintetică propriu-zisă (S). S-a afirmat că iradierea acţionează slab asupra ADN existent şi foarte puternic asupra sintezei ADN, ceea ce înseamnă că în cazul celulelor în repaos, la care gradul de sinteză este foarte mic, influenţa asupra ADN este mai puţin însemnată. Stadiul în care celula se găseşte în momentul iradierii îi determină sensibilitatea, adică răspunsul la acţiunea radiaţiilor : dacă sinteza ADN este deja începută, sînt necesare doze mult mai mari de radiaţii pentru a produce inhibiţie ; cînd iradierea se face în perioada de presinteză, doze relativ mici produc un efect marcat.

Modificările mai puţin accentuate ale acizilor nucleici din ficat îşi pot găsi o explicaţie parţială şi în faptul că ficatul exercită o reacţie de detoxifiere, insuficientă totuşi pentru a influenţa în mod semnificativ gradul de letalitate [13].

Tot în legătură cu sensibilitatea de organ la citostatice, trebuie să menţionăm faptul că ea apare oarecum diferenţiată după natura substanţei utilizate. Acest lucru apare evident din curbele care reprezintă variaţiile acizilor nucleici în ţesuturile animalelor tratate cu doze echivalente de citostatice, care, deşi reflectă o acţiune netă asupra acestor compuşi macromoleculari, prezintă unele particularităţi proprii structurii citostaticului şi a ţesutului. Observăm astfel că sub acţiunea dozelor letale de substanţe (LD 100/5) scăderea acizilor nucleici se face în moduri diferite :

1. scădere progresivă, fără revenire la valoarea iniţială (acizii nucleici din splină la administrarea de TSPA) ;

2. scădere bruscă, care începe după 24 ore de la administrare şi se menţine în tot intervalul studiat (acizii nucleici din splină sub acţiunea TEM);

3. scădere în valuri, cu minime şi maxime, care prezintă sau nu o tendinţă de refacere a cantităţii de acizi nucleici în ziua a 8-a (ARN şi ADN din ţesuturi la doza de 1 mg TEM) în cazul diminuării cantităţii de citostatic (LD 100/15).

Deci, curbele acizilor nucleici, pentru diferite intervale de la administrarea substanţei, arată un răspuns diferenţiat în funcţie de citostaticul utilizat. Dacă, pe de altă parte, am compara valorile acizilor nucleici numai la 24 ore de la administrare, fără a cunoaşte alte puncte de pe curbă, am putea trage concluzia eronată că numai TEM şi sarcolizina acţionează asupra ADN din splină şi că TSPA nu are acţiune (pentru că efectul ei se manifestă mai ales în ziua a 5-a). Mai mult, în unele cazuri se observă un efect antagonist *în timp* al unor citostatice : de exemplu, sub acţiunea TEM, în ziua a 5-a se observă în ficat cantitatea minimă de ARN, în timp ce la administrarea unei doze echivalente de sarcolizină, după acelaşi interval ARN apare refăcut : de asemenea, maximele curbei care reprezintă variaţiile ARN sub acţiunea aceloraşi substanţe apar în zile diferite. Acest fapt dovedeşte că în evaluarea sensibilităţii unui ţesut nu este suficientă observarea unui singur moment, ci se impune cercetarea minuţioasă în timp a efectelor.

Explicaţia răspunsului oarecum diferit al acizilor nucleici în funcţie de citostaticul folosit, trebuie căutată în mecanismul de reacţie al agenţilor alchilanţi cu grupările chimice ale compuşilor biologici. Această reacţie are loc la nivelul grupărilor active ale proteinelor, carboxil şi aminică, iar în cazul acizilor nucleici, la nivelul grupării fosforice [14], după cum se vede din tabela alăturată.

Tabelă

Modul de combinare a unor agenţi alchilanţi cu acizii nucleici

Compusul	Acizi nucleici	
	Gruparea fosfat primar $=P-O-Na$	Gruparea amino $R-NH_2$
Azot iperită $Cl-CH_2-CH_2-N$	$=P-O-CH_2-CH_2-N$	$R-NH-CH_2-CH_2-N$
Etilenimină CH_2-CH_2 N	$=P-O-CH_2-CH_2-NH-$ $+NaOH$	$R-NH-CH_2-CH_2-NH-$

Deşi mecanismul de reacţie este acelaşi, experienţe efectuate cu atomi marcaţi au arătat că legarea diferiţilor agenţi alchilanţi de componentele celulare are loc cu viteze diferite, unii reacţionînd mai repede cu ADN

(sarcolizina) iar alţii reacţionînd mai mult cu cisteina (clorambucil), ceea ce explică sensibilitatea diferenţiată după structura chimică a substanţei utilizate [14].

Un ultim aspect pe care dorim să-l subliniem este acela că agenţii alchilanţi produc efecte mai intense asupra acizilor nucleici decît radiaţiile ionizante care induc un procent de letalitate oarecum analog. Acest efect este în legătură cu timpul necesar pentru a reacţiona asupra celulei, care în cazul iradierii este de cîteva minute, în timp ce citostaticele continuă să acţioneze cîteva ore de la administrare.

Alura curbelor care reprezintă variaţiile acizilor nucleici arată existenţa unui paralelism între scăderea acestor compuşi şi letalitatea animalelor, la fel ca în cazul acţiunii radiaţiilor ionizante. Se pune în evidenţă faptul că dozele de citostatic care omoară rapid animalul împiedică refacerea acizilor nucleici, în timp ce în cazul dozelor neletale, procesul este reversibil.

CONCLUZII

Doze letale de L-sarcolizină, TEM şi TSPA produc o scădere a acizilor nucleici din ficat şi splină.

Ritmul de inhibiţie a sintezei acizilor nucleici se manifestă în mod diferit asupra ARN şi ADN şi depinde de structura chimică a citostaticului utilizat.

L-sarcolizina, TEM şi TSPA influenţează mai mult acizii nucleici din splină decît pe cei din ficat.

Se observă o legătură între inhibiţia sintezei acizilor nucleici şi letalitatea animalelor.

Rezultatele obţinute în această lucrare, împreună cu datele acumulate din experienţe anterioare, vor constitui puncte de plecare pentru încercarea de a proteja specific procesele biochimice la nivelul diferitelor ţesuturi faţă de acţiunea toxică a citostaticelor.

Institutul oncologic,
Bucureşti

Prezentată la redacţie la 8 iulie 1960

ИЗМЕНЕНИЯ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ ТКАНЕЙ ПОД ДЕЙСТВИЕМ БОЛЬШИХ ДОЗ ЦИТОСТАТИКОВ

РЕЗЮМЕ

Изучался ритм торможения синтеза РНК и ДНК в печени и селезенке крыс, инъектированных летальными дозами (LD 100/5) L —сарколизина, ТЕМ и TSPA спустя 1, 2, 3, 5 дней после введения.

Торможение синтеза нуклеиновых кислот проявляется различно в зависимости от цитостатика: TSPA вызывает прогрессивное снижение в селезенке; TEM вызывает резкое уменьшение спустя 24 часа; этот пониженный уровень сохраняется на весь промежуток исследования; при введении сарколизина наблюдается тенденция к восстановлению.

При уменьшении дозы цитостатиков (LD 100/15) на кривых, представляющих изменения нуклеиновых кислот, наблюдаются их минимальные и максимальные количества, а иногда стремление к восстановлению первоначального количества. Эти опыты выявляют также различную чувствительность селезенки и печени по отношению к цитостатикам.

MODIFICATIONS DES ACIDES NUCLÉIQUES DES TISSUS APRÈS L'ADMINISTRATION DE DOSES LÉTALES DE CYTOSTATIQUES

RÉSUMÉ

On a étudié le rythme de l'inhibition de la synthèse de l'ARN et de l'ADN dans le foie et la rate des rats, les 1er, 2e, 3e et 5e jours après l'administration de doses létales (LD 100/5) de L-sarcolysine, TEM et TSPA. L'inhibition de la synthèse des acides nucléiques se manifeste différemment, selon le cytostatique utilisé : le TSPA produit une diminution progressive, dans la rate ; le TEM détermine une baisse importante au bout de 24 heures, ce niveau bas se maintenant pendant tout l'intervalle étudié ; lors de l'administration de sarcolysine, on observe une tendance de restauration.

En diminuant les doses de cytostatiques (LD 100/15), on observe, sur la courbe représentant les variations des acides nucléiques, des minimums et des maximums et, parfois, une certaine tendance à la restauration de la quantité initiale. Ces expériences mettent également en évidence la sensibilité différente, de la rate et du foie, aux cytostatiques.

BIBLIOGRAFIE

1. C. E. GJESSING, A. CHANUTIN, Cancer Res., **6**, 593 (1946).
2. P. ALEXANDER, Adv. in Cancer Res., **2**, 1 (1954).
3. H. LETTRÉ, Naturwiss., **41**, 188 (1954).
4. O. COSTĂCHEL, P. TĂUTU, *Consideraţii de ordin farmacologic şi toxicologic.* Comunicată la Soc. şt. medicale, Cercul de oncologie, 29.VI.1960.
5. O. COSTĂCHEL, GH. FURNICĂ, O. POPOVICI, M. FURNICĂ, Studii şi cercetări de biochimie, **I**, *4*, 341 (1958).
6. O. COSTĂCHEL, M. FURNICĂ, GH. FURNICĂ, O. POPOVICI, Studii şi cercetări de biochimie, **III**, *1*, 21 (1960).

7. O. COSTĂCHEL, M. FURNICĂ, O. POPOVICI, GH. FURNICĂ, *Aspects biochimiques de l'organisme des rats irradiés sous protection de S, 2-aminoéthylène isothiuronium, Br. HBr.* Lucrare prezentată la al IX-lea Congres internațional de radiologie München, 25—30.VII.1959.
8. O. COSTĂCHEL, M. FURNICĂ, N. VOICULET, *Données expérimentales sur la protection d'organe par l'AET.* Lucrare prezentată la al IX-lea Simposium de radiobiologie, Roma, 15—29.VI.1960.
9. A. A. TUSTANOVSKI, I. T. IVANOVA, DAN SSSR, **122**, *4*, 665 (1958).
10. J. S. MITCHELL, Brit. J. Exper. Pathol., **23**, 285 (1942).
11. L. G. LAJTHA, R. OLIVER, T. KUMATORI, F. ELLIS, Rad. Res., **8**, 1 (1958).
12. L. G. LAJTHA, R. OLIVER, R. BERRY, W. D. NOYES, Nature, **182**, 1788 (1958).
13. E. S. TRANS, Proc. Soc. Expt. Biol. Med., **99**, 133 (1958).
14. P. ALEXANDER, K. A. STACEY, Ann. N. Y. Acad. Sc., **68**, *3*, 1225 (1958).

STUDIUL MODIFICĂRILOR UNOR COMPUȘI FOSFORAȚI ÎN MIOCARDUL, MUȘCHII SCHELETICI ȘI PLĂMÎNUL ȘOBOLANILOR SUPRARENALECTOMIZAȚI *)

DE

E. T. BÎRSAN, B. CUPARENCU, AL. GĂVRUȘ și J. RUSU

Datele din literatură asupra modificărilor suferite de substanțele fosforate macroergice în urma extirpării bilaterale a suprarenalelor sînt foarte discordante. K. Lang [7] constată că după suprarenalectomie conținutul în „pirofosfat" (adică în fosfor labil) al mușchilor scheletici de iepure nu se modifică, în schimb scade concentrația creatin-fosfatului și crește cea a fosforului organic. S. Ochoa [8], experimentînd pe mușchi de cobai, ajunge la rezultate similare. Normark și colaboratori observă o scădere a creatin-fosfatului după suprarenalectomie, Albaum constată că ATP-ul și creatin-fosfatul nu se modifică în mușchii șobolanilor operați, din contra Courcy remarcă o ușoară creștere a fosfaților macroergici (citat după Iudaev) [6].

În baza acestor date, N. A. Iudaev [6] ajunge la concluzia că opinia cea mai corectă ar fi că după îndepărtarea suprarenalelor conținutul organelor în fosfați macroergici prezintă o tendință de creștere.

Dacă după suprarenalectomie conținutul în substanțe fosforate macroergice nu se modifică sau eventual crește, adinamia animalelor suprarenoprive nu poate fi pusă în legătură cu variațiile conținutului în acești compuși atît de importanți.

În lucrarea de față ne-am propus să reluăm studiul modificărilor suferite de fosforul labil și de fosforul anorganic în miocardul, mușchii scheletici și plămînul animalelor suprarenalectomizate.

Am cercetat conținutul în fosfor labil și fosfor anorganic al plămînului, întrucît am dorit să vedem în ce măsură suprarenalectomia are efect și asupra unui organ unde ATP-ul nu are legătură cu contracția musculară.

*) Comunicare prezentată în ședința din 15 martie 1960, a filialei Cluj a Academiei R. P. R.

METODA DE LUCRU

S-au utilizat şobolani albi adulţi, de ambe sexe, cu greutatea variind între 200 şi 280 g. Animalele erau hrănite cu un regim standard echilibrat. La începutul experienţelor noastre şobolanii au fost grupaţi în două loturi. În lotul I, format din 26 animale, au intrat şobolanii de control. Din lotul al II-lea făceau parte animalele la care se practica suprarenalectomia bilaterală, într-un singur timp, pe cale lombară. După 8—9 zile de la intervenţie animalele erau sacrificate; alimentaţia animalelor nu era modificată, ca lichid de băut servind tot apa.

În curînd ne-am dat seama că sacrificarea la 8—9 zile a *tuturor* şobolanilor nu este corectă, întrucît gradul de insuficienţă suprarenală nu este acelaşi, existînd diferenţe între animale şi subloturi. Pentru a remedia acest neajuns, nu ne-am mai ghidat după numărul de zile care au trecut de la intervenţie, ci după apariţia semnelor de adinamie. Pentru aprecierea adinamiei ne-am servit de o probă nesîngerîndă, foarte simplă, dar suficient de fidelă, preconizată de către F. Verzár [10] şi care constă din următoarele: animalele sînt aşezate pe ochiurile unui grătar de metal, aşezat vertical. În timp ce animalele ce nu prezintă fenomene de adinamie urcă grătarul, şobolanii adinamici rămîn pe loc sau chiar cad. În momentul în care fenomenele de adinamie erau suficient de exprimate, animalele erau sacrificate. În baza acestui test, cea mai mare parte a şobolanilor au fost sacrificaţi după 15 zile de la intervenţie şi un număr mai restrîns după 8—9 zile. Toţi aceşti şobolani, în număr de 21, formează lotul II.

Lotul III a fost alcătuit din 13 şobolani sacrificaţi la 8—9 zile după extirparea glandelor, dar care nu prezentau simptome de adinamie.

În afară de aceasta s-a mai folosit, în vederea unui control suplimentar, un număr de 5 şobolani suprarenalectomizaţi unilateral şi sacrificaţi la 7 zile după operaţie. În fine, la un număr de 4 animale s-a injectat intramuscular, timp de 10 zile, 3 mg acetat de cortizon zilnic.

Animalele erau sacrificate prin decapitare, după ce fuseseră narcotizate superficial cu o soluţie de sulfat de magneziu 25% administrată intraperitoneal, în doză de 250 sau 125 mg/kg, cu scopul de a evita convulsiile din timpul sacrificării, care duc la pierderi însemnate de fosfor labil. Organele erau prelevate imediat şi puse într-un amestec refrigerent de gheaţă şi sare. După ce îngheţau, se spălau cu apă răcită, pentru a îndepărta urmele de sînge şi de sare şi apoi se cîntăreau cu balanţa de torsiune. Urmau prelucrările cerute de metodele utilizate.

Date fiind dimensiunile mici ale inimii de şobolan, care nu permit efectuarea pe acelaşi organ a mai multor determinări, în cursul experienţelor noastre am folosit mai multe inimi pentru o singură determinare, după ce ţesuturile fuseseră suficient de bine fragmentate şi amestecate. În mod analog s-a procedat cu plămînul şi cu amestecul de muşchi albi şi roşii, recoltaţi din coapsă şi gambă. Datorită acestui procedeu, fiecare rezultat este în fond media mai multor rezultate, iar media generală este media mediilor. Pentru siguranţă, fiecare dozare s-a făcut în duplicat. În tabelă, valorile individuale reprezintă media acestor duplicate (care, de altfel, au fost foarte apropiate).

Tabelă

Conținutul de fosfor labil și fosfor anorganic în miocardul, mușchii scheletici și plămînul șobolanilor suprarenalectomizați (mg/100 g țesut umed)

Lotul *)	Nr. de animale	Miocard		Mușchi scheletici		Plămîn	
		P labil	P anorganic	P labil	P anorganic	P labil	P anorganic
I	4	—	54,50	27,20	78,20	25,85	29,91
	5	22,88	39,70	26,20	86,14	21,25	24,28
	4	25,50	47,02	33,10	74,69	20,55	19,16
	5	24,33	49,35	21,75	88,84	23,41	21,90
	3	23,40	41,14	27,49	—	—	—
Media	21	24,02	46,34	27,14	81,96	22,76	23,81
$\pm \sigma$		$\pm$ 1,09	$\pm$ 5,51	$\pm$ 6,62	$\pm$ 4,04	$\pm$ 2,38	$\pm$ 4,56
II	4	6,71	29,82	19,20	32,49	—	—
	6	7,56	39,30	19,42	74,50	7,43	21,80
	2	7,90	72,29	5,80	92,36	8,73	28,03
	5	4,81	35,64	10,74	79,97	3,74	21,57
	4	5,46	49,33	17,85	96,92	3,69	21,38
Media $\pm$ S.D	21	6,48	45,27	14,60	75,25	5,89	23,19
$\pm \sigma$		$\pm$ 1,43	$\pm$16,86	$\pm$6,09	$\pm$16	$\pm$ 2,5	$\pm$ 3,2
P		P< 0,01	P> 0,50	P<0,005	P> 0,50	P< 0,01	P> 0,50
III	4	37,42	56,73	28,32	73,44	26,13	26,90
	5	57,05	49,32	37,29	62,38	25,23	25,16
	4	35,13	80,05	59,31	55,40	—	—
Media $\pm$ S.D	13	43,20	62,03	41,64	63,74	25,68	26,03
$\pm \sigma$		$\pm$12,03	$\pm$16,03	$\pm$15,9	$\pm$ 9,08	$\pm$ 0,6	$\pm$ 0,8
P		P< 0,05	P< 0,10	P< 0,10	P< 0,05	P> 0,50	P> 0,50
IV		31,91	51,56	67,83	63,97	38,11	22,45
V		322,75	48,63	195,13	65,85	126,58	25,64
		Valori relative medii					
I		100	100	100	100	100	100
II		26,6	97,7	53,8	91,8	25,9	97,4
III		179,8	134,3	153,4	77,8	113,3	113,5
IV		132,8	111,7	249,9	78,0	166,9	94,3
V		1 343,6	104,9	718,9	80,0	556,1	107,5

*) I = Animale martor; II = animale suprarenalectomizate, sacrificate în stare de adinamie; III = animale suprarenalectomizate, sacrificate înainte de instalarea stării de adinamie; IV = animale suprarenalectomizate unilateral; V = animale tratate cu acetat de cortizon. Semnificația rezultatelor a fost calculată în raport cu valorile medii ale lotului I (de control). La loturile IV și V, semnificația rezultatelor nu a mai fost estimată statistic, dat fiind numărul mic de experiențe. Aceste loturi sînt date cu titlu auxiliar (v. textul).

Determinările executate de noi au fost următoarele : fosforul labil, fosforul anorganic, fosforul acidosolubil total, fosforul total, azotul total, procentul de reziduu uscat. S-a mai determinat greutatea inimii la fiecare animal şi s-a raportat la greutatea corporală.

Dozarea fosforului labil s-a făcut cu metoda Meşkova şi Severin [1], în varianta precipitării cu acetat de mercur. Fosforul anorganic s-a dozat după metoda Fiske şi Subbarow [4]. Fosforul acidosolubil total şi fosforul total s-au determinat după mineralizare cu H_2SO_4 5N şi perhidrol. Dozarea fosforului s-a făcut în toate cazurile după metoda Lowry şi Lopez [4]. Azotul total s-a evaluat cu o micrometodă Kjeldahl, prin titrare iodometrică [2].

REZULTATE ŞI DISCUŢII

În tabela alăturată sînt trecute rezultatele obţinute în urma dozărilor de fosfor labil şi fosfor anorganic, singurele componente care au prezentat variaţii semnificative de la un lot la altul. Semnificaţia rezultatelor a fost calculată după testul „t" [5].

Din datele prezentate rezultă că starea de adinamie a animalelor suprarenalectomizate este însoţită de o scădere foarte însemnată a conţinutului în fosfor labil, în toate organele studiate. Cum cea mai mare parte din fosforul labil este formată din ATP, se poate spune că adinamia animalelor lipsite de suprarenale este acompaniată de o diminuare apreciabilă a conţinutului în ATP al organelor. După părerea noastră, această constatare poate furniza o explicaţie mulţumitoare a stării de adinamie şi a lipsei de rezistenţă la efort, fenomene atît de caracteristice insuficienţei corticosuprarenale. Scăderea fosforului labil nu este un fenomen specific organelor active ale locomoţiei (muşchii) şi nici inimii, ci interesează şi alte organe, de exemplu plămînul.

Explicaţia scăderii conţinutului de fosfor labil al diverselor organe deocamdată nu poate fi dată. În principiu există două posibilităţi :

a) Fosforul labil scade în urma intensificării activităţii enzimelor care scindează fosfaţii macroergici, în primul rînd ATP-aza.

b) Geneza fosfaţilor macroergici este diminuată.

Dacă scăderea fosforului labil se datoreşte activităţii ATP-azei, atunci concentraţia fosforului anorganic ar trebui să crească paralel cu scăderea fosforului labil. În experienţele noastre acest lucru nu se constată însă. Evident, se poate susţine şi explicaţia că fosfatul desprins de pe fosfaţii macroergici este transferat altor substanţe. O astfel de reacţie este aceea catalizată de hexochinază, cu formarea glucozo-6-fosfatului. Se ştie că *in vitro* corticosteroizii inhibă activitatea hexochinazică (K r a h l şi C o r i, citaţi după I u d a e v) [6]. Totuşi, după suprarenalectomie nu se constată o acumulare de glucozo-6-fosfat ci, din contră, o scădere (I n g l e şi N e z a m i s, citaţi de I u d a e v) [6].

Aceste date contradictorii lasă problema deschisă. Este tot atît de plauzibilă ipoteza că geneza scăzută a fosfaţilor macroergici este cauza

scăderii conținutului în fósfor labil. Evident, singur experimentul va decide în favoarea uneia sau alteia dintre ipoteze.

Rezultatele noastre mai arată un fapt care, după părerea noastră, are o semnificație deosebită. Este vorba de scăderea masivă a conținutului în fosfor labil al miocardului. Aceasta ne face să credem că hipodinamia cordului animalelor suprarenalectomizate și addisonienilor s-ar putea explica, cel puțin parțial, prin scăderea concentrației fosfaților macroergici. Mai remarcăm că în miocard scăderea fosforului labil este mult mai accentuată decît în mușchii scheletici. De notat că scăderea conținutului în fosfor labil nu se corelează cu o atrofie a miocardului, întrucît greutatea inimii, raportată la greutatea corpului, nu prezintă fluctuații semnificative față de lotul de control. Această constatare este valabilă pentru toate loturile de experiență.

La animalele care nu sînt în stare de adinamie ar trebui să găsim valori ale fosforului labil și ale fosforului anorganic foarte apropiate de valorile normale. În realitate însă, în toate organele studiate se constată valori ale fosforului labil ce depășesc considerabil cifrele obținute la lotul de control. În același timp variațiile fosforului anorganic nu prezintă un comportament unitar. Creșterea fosforului labil peste valorile de control este greu de explicat. Se poate admite că la începutul stării de insuficiență corticosuprarenală valorile fosforului labil să fie normale, dat fiind faptul că în diverse organe există rezerve de corticoizi, cum a fost subliniat recent de către I. G. Fazekas [3]. Pe lîngă un nivel de corticoizi încă relativ ridicat, menținerea conținutului normal de fosfor labil este posibilă. Este însă greu de înțeles de ce conținutul în fosfor labil nu rămîne nemodificat, ci prezintă o creștere. Putem crede că organismul animalelor suprarenalectomizate utilizează mai economic cantitățile mici de corticosteroizi de care dispune. Această „economisire" este foarte asemănătoare ca efect cu aceea ce se petrece la animalul suprarenalectomizat unilateral, unde fenomenele compensatoare sînt bine cunoscute. La aceste animale modificările fosforului labil și ale fosforului anorganic sînt, în general, de același sens ca și la șobolanii suprarenalectomizați bilateral, dar sacrificați înaintea instalării adinamiei. În fine, există o asemănare evidentă între modificările suferite de fosforul labil după administrarea de cortizon și modificările observate în primele faze ale insuficienței suprarenale. Este adevărat că după administrare de cortizon conținutul în fosfor anorganic nu se modifică, cu excepția mușchiului scheletic, unde se constată o scădere. Astfel, oricît ar părea de curios, se poate vorbi — la figurat — de o relativă hiperfuncție corticosuprarenală în primele faze ale insuficienței suprarenale.

Modificările fazice suferite de fosforul labil și fosforul anorganic după suprarenalectomie explică, în mare măsură, discordanțele dintre datele diferiților autori.

În privința rolului pe care secreția medulo-suprarenalei ar putea să-l joace în producerea fenomenelor constatate, el este neglijabil. Într-adevăr, noi am găsit că în urma suprarenalectomiei, în stare de adinamie, se produce o diminuare a conținutului în fosfor labil al organelor. În același timp, din datele din literatură rezultă că administrarea adre-

nalinei produce o scădere (Burns şi colaboratori, Mulder, Weicker, citaţi după W. Raab) [9].

Desigur că multitudinea de probleme ridicate de această cercetare necesită încă studii detaliate.

CONCLUZII

Studiind modificările conţinutului de fosfor labil şi fosfor anorganic în miocardul, muşchii scheletici şi plămînul şobolanilor suprarenalectomizaţi, am constatat următoarele:

La animalele care au intrat în stare de adinamie, conţinutul în fosfor labil al organelor studiate prezintă o scădere foarte însemnată. Fosforul anorganic rămîne practic neschimbat.

La şobolanii suprarenalectomizaţi, care nu prezintă semne de adinamie, conţinutul de fosfor labil creşte în toate organele peste valorile de control, cu excepţia plămînului. Fosforul anorganic prezintă variaţii de la organ la organ (creşte în inimă, scade în muşchiul scheletic, nu se modifică în plămîn).

La animalele suprarenalectomizate unilateral se constată modificări asemănătoare cu cele observate la animalele suprarenalectomizate dar care nu prezintă adinamie.

Dacă se administrează timp de 10 zile acetat de cortizon în doză zilnică de 3 mg/kg la animalele normale, se observă o creştere foarte însemnată a conţinutului de fosfor labil, în timp ce fosforul anorganic nu se modifică (cu excepţia muşchiului scheletic, unde el scade).

Caracterul fazic al modificărilor conţinutului în fosfor labil în decursul insuficienţei suprarenale explică în mare măsură datele discordante din literatură.

Credem că adinamia musculară şi hipodinamia cordului animalelor suprarenoprive se pot explica, cel puţin în parte, prin scăderea conţinutului în fosfor labil al miocardului şi al muşchilor scheletici.

Autorii sînt deosebit de îndatoraţi dr. L.Grosu, pentru ajutorul dat în timpul executării unei părţi a lucrării.

Catedra de fiziologie şi biofizică
a I.M.F., Cluj

Prezentată la redacţie la 14 mai 1960

ИССЛЕДОВАНИЕ ИЗМЕНЕНИЙ НЕКОТОРЫХ ФОСФОРОСОДЕРЖАЩИХ СОЕДИНЕНИЙ ИЗ МИОКАРДА, ПОПЕРЕЧНОПОЛОСАТЫХ МЫШЦ И ЛЕГКОГО КРЫС, У КОТОРЫХ ВЫРЕЗАНЫ НАДПОЧЕЧНИКИ

РЕЗЮМЕ

Изучая изменение содержания лабильного и неорганического фосфора в миокарде, поперечно-полосатых мышцах и легком крыс, у которых вырезаны надпочечники, авторы выяснили следующее:

1. У животных, находящихся в стадии адинамии, содержание лабильного фосфора в изучаемых органах значительно понижено, тогда как количество неорганического фосфора практически не изменяется.

2. У крыс с вырезанными надпочечниками, еще не проявляющих признаки адинамии, содержание лабильного фосфора превышает во всех органах контрольные значения. Неорганический фосфор колеблется в зависимости от органа (возрастает в сердце, понижается в поперечно-полосатой мышце, не изменяется в легком).

3. У животных, у которых вырезан один надпочечник, наблюдаются изменения, сходные с указанными в пункте 2.

4. При введении в течение 10 дней уксуснокислого кортизона (3 мг/кг ежедневно), у нормальных особей отмечается значительное увеличение содержания лабильного фосфора, тогда как содержание неорганического фосфора не изменяется (за исключением поперечно-полосатой мышцы, в которой его содержание понижается).

5. Фазовый характер изменения содержания лабильного фосфора при гипофункции надпочечников в значительной мере объясняет расхождение литературных данных.

6. Авторы считают что мышечную адинамию и гиподинамию сердца у лишенных надпочечников животных можно объяснить частично уменьшением содержания лабильного фосфора в миокарде и в поперечно-полосатых мышцах.

ÉTUDE DES MODIFICATIONS DE CERTAINS COMPOSÉS PHOSPHORÉS, DANS LE MYOCARDE, LE MUSCLE STRIÉ ET LE POUMON DU RAT SURRÉNALECTOMISÉ

RÉSUMÉ

L'étude de la teneur en phosphore labile et en phosphore anorganique du myocarde, du muscle strié et du poumon des rats surrénalectomisés a permis les constatations suivantes :

1. Chez les animaux qui sont entrés dans un état d'adynamie, la teneur des organes étudiés en phosphore labile présente une baisse très importante. Le phosphore anorganique garde des valeurs pratiquement inchangées.

2. Chez les rats surrénalectomisés, qui ne donnent pas encore de signes d'adynamie, la teneur en phosphore labile augmente dans tous les organes, atteignant des valeurs supérieures aux valeurs de contrôle. Le phosphore anorganique accuse des variations d'un organe à l'autre (taux accru dans le cœur, baisse dans le muscle strié et pas de modifications dans le poumon).

3. Les animaux soumis à la surrénalectomie unilatérale présentent des modifications analogues aux modifications ci-dessus (alinéa n° 2).

4. Après l'administration d'acétate de cortisone pendant 10 jours, à la dose quotidienne de 3 mg/kg, on observe chez les animaux normaux une augmentation très importante de la teneur en phosphore labile, tandis que le taux du phosphore anorganique n'est pas modifié (à l'exception du muscle strié, où ce dernier baisse).

5. Le caractère phasique des modifications de la teneur en phosphore labile, au cours de l'insuffisance surrénale, explique en bonne mesure les données discordantes de la littérature.

6. Les auteurs sont d'avis que l'adynamie musculaire et l'hypodynamie du cœur des animaux surrénoprives peuvent s'expliquer, du moins en partie, par la baisse de la teneur du myocarde et des muscles striés en phosphore labile.

BIBLIOGRAFIE

1. АСАТИАНИ В. С., *Биохимическая фотометрия.* Изд. Акад. Наук, СССР, Москва 1957.
2. БАЛАХОВСКИ С. Д., БАЛАХОВСКИ И. С., Методы химического анализа крови, Медгиз, Москва, 1953.
3. FAZEKAS I. G., *Biological demonstration of glucocorticoid and mineralocorticoid-like substances in the myocardium.* Folia Endocrinologica, **XI**, 316 (1958).
4. ФЕРДМАН Д. Л., СОПИН Е. Ф. *Практикум по биологической химии,* Изд. Советская Наука, Москва, 1957.
5. HETÉNYI GÉZA ifj, *Kisérleti eredmények statisztikai értékelése,* în *A Kisérleti Orvostudomány Vizsgálo Módszerei,* Akademiai Kiado, Budapest, 1956, **II**.
6. ЮДАЕВ Н. А., *Биохимия стероидных гормонов коры надпочечников,* Медгиз, Москва, 1956.
7. LANG K., *Nebennierenrinde und Muskelchemismus.* Pflügers Arch., **229**, 60 (1931).
8. OCHOA S., GRANDE F., *Das Phosphagengehalt im Meerschweinchenmuskel nach Entfernung der Nebennieren,* Pflügers Arch., **231**, 220 (1933).
9. РААБ В., *Адренергическо-холинергическая регуляция обмена веществ и функции сердца,* în *Достижения Кардиологии,* Изд. Иностранная Литература, Москва, 67 (1959).
10. VERZÁR F., *Lehrbuch der Inneren Sekretion,* Lienstal, 1948.

DATE BIOCHIMICE PRIVIND ROLUL ACETILFOSFATULUI ÎN ACTIVITATEA SISTEMULUI NERVOS ȘI MECANISMUL SINTEZEI SALE

DE

I. KIȚULESCU, V. BĂLUȚĂ și G. DINESCU

În lucrări anterioare [1], [2] am găsit că acetilcolina, cunoscutul mediator chimic al influxului nervos, este promotoarea unor reacții care duc rapid la sinteza compusului macroergic acetilfosfatul.

Cercetările noastre în această direcție au arătat că sinteza acetilfosfatului depinde de activitatea colinesterazelor, care declanșează un lanț de procese energetice în mediul biologic în care se produce această sinteză.

Transformarea acetilcolinei în acetilfosfat are un ritm intens în țesuturile cu metabolism foarte activ sau plurifuncțional — creier, ficat (șoarece), tumori — și are o intensitate scăzută sau nedecelabilă în alte țesuturi ale organismului animal.

Se știe că unui ritm metabolic intens îi sînt proprii procese energetice active, a căror eficiență poate fi exprimată prin compușii fosforici macroergici rezultați. Țesutul poate utiliza specific anumiți compuși fosforici macroergici, pentru activarea ritmului în care se desfășoară procesele dintr-un anumit sector metabolic. De aceea socotim că este important a se cunoaște diferențierea pe care o fac anumite țesuturi în utilizarea compușilor fosforici macroergici de care dispun, pentru efectuarea unor activități proprii stărilor normale sau patologice.

Rolul ATP-ului în activitatea nervoasă a fost susținut și de Quastel și Johnson citați în [3], care explică efectul narcoticelor prin inhibiția sintezei de ATP. Totuși, nu s-a putut găsi un paralelism între gradul narcozei și cantitatea de ATP din țesutul nervos. Presupunînd că alt compus macroergic poate fi direct interesat în narcoză, în lucrarea de față am încercat să obținem cîteva date asupra rolului sintezei de acetilfosfat în inhibiția activității sistemului nervos, căutînd să obținem

unele precizări asupra legăturilor pe care acest compus macroergic le are cu lanțul reacțiilor oxidative.

Se știe că influența pe care diferite narcotice, anestezice, analgezice o au asupra activității colinesterazelor nu a putut explica efectul lor inhibitor asupra activității nervoase, iar numeroși autori au studiat și susținut importanța acțiunii acestor substanțe asupra lanțului reacțiilor respiratorii.

Deși s-a putut dovedi paralelismul dintre puterea hipnotică a unor substanțe și inhibiția pe care acestea o exercită asupra respirației [3], totuși nu s-a putut preciza mecanismul de acțiune al acestor substanțe.

Numeroasele încercări făcute pentru a găsi veriga specifică acțiunii narcoticelor în lanțul oxidativ au dus, în urma rezultatelor inconstante obținute, la concluzia că narcoticele ar putea să influențeze mai multe reacții. Însă aceste reacții sensibile la acțiunea narcoticelor trebuie să aibă un factor comun, pentru a putea produce același efect. Legătura aceasta între reacții diferite ar putea fi făcută de difosfopiridinnucleotid, care este folosit drept coenzimă de mai multe dehidraze diferite.

Pentru a stabili dacă activitatea dehidrazelor legate de DPN este importantă pentru sinteza acetilfosfatului, am urmărit acțiunea vitaminei K_3 asupra sintezei de acetilfosfat, locul acestei vitamine în lanțul reacțiilor oxidative fiind precizat de teoria lui Martius.

Dovezi în plus asupra legăturii dintre sinteza acetilfosfatului și lanțul reacțiilor transportoare de electroni ale celulei le-am căutat în studiul acțiunii unui decuplant al fosforilării oxidative (2, 4-dinitrofenolul) asupra relației dintre vitamina K_3 și sinteza acetilfosfatului. Am presupus că diferențe în starea difosfopiridinnucleotizilor (reducere sau oxidare) va permite evidențierea acestor relații.

Colowick a arătat [4] că dacă într-un mediu biologic (drojdia de bere) se inhibă lanțul terminal al oxidărilor (citocromoxidaza) prin cianură sau anaerobioză și se adaugă glucoză, toată cantitatea fosfopiridinnucleotidului devine redusă. Același procedeu l-am folosit și în cercetarea noastră, căutînd o confirmare în rezultatul obținut prin îndepărtarea oxigenului din țesut, barbotînd țesutul cu bioxid de carbon.

MATERIAL ȘI METODĂ

Narcoza prin cloraloză. S-au folosit 56 șobolani albi : 30 animale au servit drept martore, iar 26 au fost supuse narcozei. Narcoza s-a produs prin injecție intraperitoneală de α-cloraloză (0,01 g/kg corp).

S-a studiat capacitatea creierului șobolanilor de a sintetiza acetilfosfat la animalele sub narcoză, comparativ cu martorii, sacrificînd animalele după diverse perioade de timp de la injectarea α-cloralozei, corespunzătoare unor intensități diferite ale narcozei, după cum urmează :

— 10 animale au fost sacrificate la 15 min de la injecție (începutul instalării narcozei),

— 10 animale au fost sacrificate la 2 ore de la injecție (în timpul narcozei profunde),

— 6 animale au fost sacrificate la 4 ore de la injecție (începutul deșteptării din narcoză).

Tehnica de dozare a acetilfosfatului a fost dată în lucrări anterioare [1], [2].

Acțiunea uretanului, morfinei, novocainei. Creierul de șobolan alb, prelevat imediat după sacrificarea animalului, a fost cîntărit și mojarat în soluție de uretan sau morfină sau novocaină, în proporție de 1/5 (1 g țesut la 5 ml soluție). S-a studiat efectul substanțelor menționate, în soluții de concentrații diferite: 0,1; 0,5; 1; 1,5 și 2 g%.

După un contact de 10 min al acestor soluții cu mojaratele de creier s-a dozat acetilfosfatul după tehnica obișnuită [1].

Acțiunea amestecului de novocaină cu morfină sau uretan. S-au folosit amestecurile de novocaină 1% cu morfină 0,1% sau novocaină 1% cu uretan 0,1%. Condițiile de lucru au fost asemănătoare celor din experiența precedentă.

Influența vitaminei K_3 *asupra sintezei de acetilfosfat.* Novocaina, morfina și uretanul din experiențele precedente au fost înlocuite cu vitamină K_3. S-a studiat acțiunea următoarelor concentrații de vitamină K_3: 1; 0,5; 0,25 g%. pH-ul soluțiilor de vitamină K_3 a fost adus în prealabil la 5,4.

Influența α-2, 4-dinitrofenolului asupra sintezei de acetilfosfat. Creierul de șobolan a fost mojarat în glucoză 2%, în proporție de 1 g țesut la 5 ml soluție. S-a adăugat suspensiei de creier α-2,4-dinitrofenol, soluție 0,025 g%, în proporție de 0,25 ml soluție de dinitrofenol pentru 1 ml suspensie de creier, astfel ca fiecărui mililitru de omogenat de creier să-i corespundă 60 γ dinitrofenol. Influența dinitrofenolului s-a studiat comparativ cu martorii (soluția de dinitrofenol fiind înlocuită cu apă). S-a măsurat capacitatea suspensiei de creier (conținînd sau nu α-2,4-dinitrofenol) de a sintetiza acetilfosfat din acetilcolină, în prezența și absența vitaminei K_3. Concentrația vitaminei K_3 folosită în experiență a fost de 0,2 g la 100 ml suspensie de creier.

Prima serie de experiențe din această categorie s-a făcut în condițiile inhibiției oxidărilor terminale ale lanțului respirator (KCN 20 mg%, adusă la pH egal cu 6,4 cu ajutorul H_2SO_4).

A doua serie de experiențe a avut suspensia de creier barbotată cu CO_2.

În a treia serie de experiențe nu s-a acționat nici prin cianură, nici prin CO_2 asupra oxidărilor terminale ale lanțului respirator. Suspensia a fost barbotată cu O_2.

REZULTATE

Narcoza prin α-cloraloză. Narcoza produce constant o inhibiție a capacității creierului de a sintetiza acetilfosfat. Această inhibiție este paralelă cu gradul narcozei, adică:

— La începutul somnului narcotic, cînd inhibiția activității nervoase este foarte slabă, șobolanii deșteptîndu-se ușor, capacitatea creierului de a sintetiza acetilfosfat este inhibată slab, cu 15% față de activitatea martorilor.

— În mijlocul somnului narcotic, cînd inhibiția este profundă, capacitatea creierului de a sintetiza acetilfosfatul este foarte mică, inhibiția față de martor fiind de 40%.

— După 4 ore de la începutul narcozei, cînd șobolanii încep să se trezească, scăderea capacității creierului de a sintetiza acetilfosfat este mică (inhibiție 20%).

— Rezultatele sînt date în tabela 1.

Tabela 1

Inhibiția capacității de sinteză a acetilfosfatului în creierul șobolanilor în timpul narcozei prin cloraloză

Intervalele de la începutul narcozei	μM acetilfosfat % ml	Inhibiție %	Nr. experiențelor
Martor	1,67±0,063	—	30
15 min	1,39+0,070	−15	10
2 ore	1,02±0,073	−40	10
4 ore	1,46±0,103	−20	6

Acțiunea uretanului, morfinei și novocainei asupra sintezei de acetilfosfat. Morfina și novocaina inhibă puternic capacitatea de sinteză a acetilfosfatului din omogenatul de creier, în raport cu concentrația soluțiilor folosite, la concentrații de 2 g% novocaina și morfina dînd inhibiții de aproximativ 60% față de activitatea martorilor. Uretanul produce, după concentrația folosită, fie activare, fie inhibare, valorile maxime ale activării sau inhibiției neatingînd 30%.

Rezultatele sînt date în tabela 2.

Tabela 2

Modificarea capacității de sinteză a acetilfosfatului în omogenatul de creier de șobolan prin novocaină, morfină și uretan

Substanța cercetată		μM acetilfosfat % ml	Modificarea % a sintezei de acetilfosfat	Nr. experiențelor
Martor		1,38±0,05	—	8
Novocaină	2%	0,58±0,04	−57	8
,,	1%	0,76±0,02	−45	8
,,	0,1%	1,54±0,06	+11	5
Morfină	2%	0,62±0,02	−55	8
,,	1%	0,82±0,02	−40	6
,,	0,1%	1,07±0,04	−23	5
Uretan	2%	1,01±0,04	−26	5
,,	1%	1,66±0,02	+20	5
,,	0,5%	1,11±0,04	−19	5
,,	0,1%	1,69±0,01	+21	5

Acțiunea amestecului de novocaină 1% cu morfină 0,1% sau uretan 0,1% asupra sintezei de acetilfosfat. Morfina sau uretanul în concentrații mici, dacă sînt folosite separat, influențează diferit capacitatea de sinteză a acetilfosfatului din omogenatul de creier (uretanul produce o ușoară acti-

vare, iar morfina o ușoară inhibiție, între 10—20%). Aceste soluții în amestec cu soluția de novocaină reduc însă aproape total inhibiția de aproximativ 50% produsă de soluția de novocaină 1% asupra capacității omogenatului de creier de a sintetiza acetilfosfat.

Rezultatele sînt date în tabela 3.

Tabela 3

Reducerea efectului inhibitor al novocainei asupra sintezei de acetilfosfat în omogenate de creier de șobolan prin concentrații slabe de morfină și uretan

Substanța cercetată	μM acetilfosfat %ml	Inhibiție %	Nr. experiențelor
Martor	1,38±0,05	—	8
Novocaină 1%	0,82±0,02	42	8
Morfină 0,1% + Novocaină 1%	1,72±0,09	7	5
Uretan 0,1% + Novocaină 1%	1,23±0,12	10	5

Acțiunea vitaminei K_3. Vitamina K_3 influențează puternic capacitatea creierului de a sintetiza acetilfosfat, dînd inhibiții mai puternice decît narcoza prin cloraloză sau decît novocaina sau morfina. Soluția de 1 g% vitamină K_3 inhibă pînă la 80% capacitatea omogenatului de creier de a sintetiza acetilfosfat.

Rezultatele sînt date în tabela 4.

Tabela 4

Acțiunea vitaminei K_3 asupra capacității creierului de a sintetiza acetilfosfat

Concentrațiile vitaminei K_3	μM acetilfosfat % ml	Inhibiție %	Nr. experiențelor
Martor	1,46±0,14	—	6
Vitamină K_3 1%	0,30±0,08	80	6
Vitamină K_3 0,5%	0,70±0,12	52	5
Vitamină K_3 0,25%	1,10±0,16	31	5

Influența α-2,4-dinitrofenolului asupra sintezei de acetilfosfat. α-2,4-Dinitrofenolul acționează diferit asupra capacității creierului de a sintetiza acetilfosfat, în raport cu gradul de oxidare sau reducere a difosfopiridinnucleotidului. Dacă citocrom-oxidaza este inhibată prin cianură, în mediu existînd glucoză, condiții care determină reducerea fosfopiridinnucleotizilor [4], dinitrofenolul produce o ușoară activare a capacității creierului de a sintetiza acetilfosfat și reduce aproape total acțiunea inhibitorie a vitaminei K_3.

Rezultate similare s-au obținut dacă în locul tratării cu cianură, omogenatul de creier a fost barbotat cu bioxid de carbon.

Rezultate diferite sînt obținute atunci cînd nu se inhibă reacțiile finale din lanțul proceselor oxidative. În aceste condiții dinitrofenolul inhibă slab capacitatea de sinteză a acetilfosfatului din omogenatul de creier și nu influențează inhibiția produsă de vitamina K_3.

Rezultatele sînt date în tabela 5.

Tabela 5

Influența α-2,4-dinitrofenolului asupra sintezei acetilfosfatului în creierul de șobolan

Condiții de lucru	α- 2,4-Dinitrofenol		α- 2,4-Dinitrofenol + vitamina K_3		Vitamina K_3		Martor μM actp % ml	Nr. exp. pentru fiecare categorie exp.
	μM actp % ml	Activare (+) sau inhibiție (−) %	μM actp % ml	Activare (+) sau inhibiție (−) %	μM actp % ml	Activare (+) sau inhibiție (−) %		
Barbotare de oxigen	3,66±0,15	−10	2,53±0,19	−38	3,03±0,19	−26	4,10±0,34	5
Barbotare de bioxid de carbon	3,71± 0,16	−5	3,53±0,16	−9	2,95±0,13	−24	3,92±0,15	5
Barbotare O_2 în prezență de cianură de potasiu	1,83±0,096	+12	1,53±0,19	−6	1,23±0,19	−24	1,63±0,38	5

DISCUȚII

Inhibiția capacității creierului de a sintetiza acetilfosfat, produsă *in vivo* prin α-cloraloză sau *in vitro* prin novocaină și morfină, și de asemenea paralelismul dintre gradul narcozei și capacitatea creierului de a sintetiza acetilfosfat sau dintre concentrațiile morfinei și novocainei și efectul lor asupra sintezei acetilfosfatului în creier susțin ipoteza că acetilfosfatul, mai mult decît ATP-ul, poate fi legat de procesele metabolice care generează conducția nervoasă.

Rezultatele au arătat că morfina sau uretanul, adăugate în soluții diluate (0,1%) unei soluții de novocaină (1%), reduc puterea inhibitorie a novocainei, ceea ce s-ar putea explica prin diferența punctelor de atac ale celor trei substanțe, fie că această diferență de atac se referă la porțiuni diferite ale creierului, cu sensibilitate diferită față de substanțele folosite, fie că ea se referă la sisteme enzimatice diferite, care se frînează unul pe celălalt. Este posibil ca diferiții centri ai creierului să reacționeze diferit la cantitatea narcoticului folosit, rezultatul obținut în omogenatul întregului creier fiind o însumare a efectelor parțiale și diferite realizate.

Aceasta ar putea explica și rezultatul obținut cu uretanul, care se știe că este un analgezic și hipnotic slab. Astfel, sensibilitatea diferiților

centri cerebrali fiind mică la acțiunea uretanului, răspunsurile diferite date de acești centri nu reușesc nici să se însumeze, nici să se anihileze, și se obține astfel un rezultat final global care nu respectă proporționalitatea față de concentrația uretanului folosită în experiență.

Dacă am admite această explicație, mecanismul biochimic al acestei sensibilități diferite trebuie să-l căutăm tot în variabilitatea răspunsului dat de mai multe sisteme enzimatice sensibile la acțiunea substanțelor cercetate, aceste sisteme frînîndu-se unul pe celălalt și existînd în raporturi cantitativ diferite în diferiții centri ai creierului.

DPN-ul, care acționează în mai multe sisteme dehidrazice, poate fi expresia unitară a unor acțiuni multiple și diferite. Faptul că morfina influențează mai multe dehidraze [5] și inhibă de asemenea și colinesterazele [5], ilustrează această posibilitate de acțiune simultană asupra mai multor sisteme enzimatice diferite. Puternica inhibiție pe care o dă vitamina K_3 asupra sintezei de acetilfosfat, similară cu aceea produsă de narcoză prin cloraloză, de novocaină și morfină, pledează pentru importanța DPN-ului redus în sinteza acetilfosfatului, indicînd totodată o cale posibilă de acțiune a narcoticelor, deoarece se știe (Martius) că vitamina K_3 acționează prin oxidarea DPN-ului.

Faptul că acțiunea dinitrofenolului influențează diferit sinteza acetilfosfatului, după gradul de oxidare sau reducere în care se află difosfopiridinnucleotidul, împiedicînd acțiunea vitaminei K_3 numai dacă tot DPN-ul este redus, subliniază încă o dată importanța difosfopiridinnucleotidului redus pentru mecanismul de sinteză a acetilfosfatului.

Se constată de asemenea că α-2,4-dinitrofenolul, cunoscut decuplant al fosforilării oxidative, nu împiedică sinteza de acetilfosfat, care se produce și în condițiile inhibiției citocrom-oxidazei produsă de KCN, condiție în care dinitrofenolul activează sinteza de acetilfosfat. Deci sinteza acetilfosfatului necesită alte condiții decît sinteza ATP-ului.

Institutul oncologic,
București

Prezentată la redacție la 20 ianuarie 1960

БИОХИМИЧЕСКИЕ ДАННЫЕ ОТНОСИТЕЛЬНО РОЛИ АЦЕТИЛФОСФАТА В ДЕЯТЕЛЬНОСТИ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ И МЕХАНИЗМ ЕГО СИНТЕЗА

РЕЗЮМЕ

При действии α-хлоралоза (in vivo) и новокаина, морфина и уретана (in vitro) на способность крысиного мозга синтезировать ацетилфосфат обнаруживается, что синтез ацетилфосфата является одним из биохимических процессов деятельности центральной нервной системы.

Наркоз α-хлоралозом вызывает у крыс торможение способности мозга синтезировать ацетилфосфат из ацетилхолина. Степень торможения этого синтеза прямо пропорциональна степени наркоза. Максимальное торможение —40%.

Новокаин и морфин вызывают in vitro торможение способности гемогената мозга (крысы) синтезировать ацетилфосфат, в прямой зависимости от их концентраций. При концентрации в 2 г% новокаин и морфин вызывают торможение этого синтеза, примерно, на 60%, по сравнению с контрольными мышами.

Уретан вызывает in vitro активирование способности мозга синтезировать ацетилфосфат при концентрациях, равных 0,1 % и 1 г %, и торможение — при концентрациях, равных 0,5% и 2г%, но ни активирование, ни торможение не достигают 30%, по сравнению с данными контрольных опытов.

При совместном введении небольших доз морфина или уретана (0,1 %) с новокаином 1% снижается способность новокаина 1% тормозить синтез ацетилфосфата.

Такая конкурентность при действии изученных веществ объясняется вмешательством фосфопиридиннуклеотидов при синтезе ацетилфосфата. В этом смысле, связь между витамином K_3 и синтезом ацетилфосфата, а также действие α-2,4-динитрофенола на эту связь, доказывает выдвинутое предположение.

Витамин K_3 вызывает резкое торможение синтеза ацетилфосфата, пропорционально его концентрации; при 1% концентрации витамина K_3 торможение равно 80%.

α-2,4-динитрофенол может уменьшить это торможение, только если фосфопиридиннуклеотиды находятся в восстановленном состоянии.

Синтез ацетилфосфата не нуждается в окислительном фосфолировании, так как на него не влияет α-2,4-динитрофенол.

DONNÉES BIOCHIMIQUES SUR LE RÔLE DE L'ACÉTYLPHOSPHATE DANS L'ACTIVITÉ DU SYSTÈME NERVEUX ET SUR LE MÉCANISME DE SA SYNTHÈSE

RÉSUMÉ

L'action exercée, *in vivo*, par l'α-chloralose et, *in vitro*, par la novocaïne, la morphine et l'uréthane, sur la capacité du cerveau du rat de synthétiser l'acétylphosphate, démontre que la synthèse de cette substance est l'un des processus biochimiques de l'activité du système nerveux central.

La narcose par α-chloralose inhibe la capacité du cerveau du rat de synthétiser l'acétylphosphate à partir de l'acétylcholine. Le degré

d'inhibition de cette synthèse est directement proportionnel à la profondeur de la narcose. La valeur maximum en a été de 40%.

La novocaïne et la morphine déterminent *in vitro* une inhibition de la capacité de l'homogénat de cerveau (de rat) de synthétiser l'acétylphosphate. L'intensité de l'action de ces substances est fonction de leurs concentrations. A la concentration de 2 g%, la novocaïne et la morphine provoquent l'inhibition de cette synthèse en proportion de 60% par rapport aux témoins.

Aux concentrations de 0,1 et 1 g%, l'uréthane exerce *in vitro* une action d'activation de la capacité du cerveau de synthétiser l'acétylphosphate et détermine une inhibition aux concentrations de 0,5 et de 2 g%. Cependant, ni l'activation ni l'inhibition n'atteignent des valeurs différant de 30% par rapport aux témoins.

L'association de certaines concentrations faibles de morphine et d'uréthane (0,1 g%), à la novocaïne à 1 g%, réduit la capacité de cette solution de novocaïne d'inhiber la synthèse de l'acétylphosphate.

L'action compétitive des substances étudiées s'explique par l'intervention des phosphopyridine-nucléotides dans la synthèse de l'acétylphosphate. Des preuves à l'appui en sont fournies par la relation qui existe entre la vitamine K_3 et la synthèse de l'acétylphosphate, ainsi que par l'action de l'α-2,4-dinitrophénol sur cette relation.

La vitamine K_3 inhibe fortement, et proportionnellement à sa concentration, la synthèse de l'acétylphosphate ; à la concentration de 1% de vitamine K_3, cette inhibition est de 80%.

L'α-2,4-dinitrophénol peut diminuer cette inhibition, mais seulement si les phosphopyridine-nucléotides se trouvent à l'état réduit.

La synthèse de l'acétylphosphate a lieu sans phosphorylation oxydative, car elle n'est pas influencée par l'action de l'α-2,4-dinitrophénol sur cette dernière.

BIBLIOGRAFIE

1. O. COSTĂCHEL, I. KITULESCU, Studii şi cercetări de biochimie, *1*, 51 (1959).
2. I. KITULESCU, V. BĂLUTĂ, Studii şi cercetări de biochimie, *1*, 53 (1960).
3. J. H. QUASTEL, British med. bull., *2*, 142 (1953).
4. S. P. COLOWICK, N. O. KAPLAN, *Methods in enzymology*. Academic Press, New York, 1956, **III**, 891.
5. Z. M. BACQ, *Pharmacodynamie biochimique*. Ed. Masson, Paris, 1954, 908.

CERCETĂRI ASUPRA FUNCȚIEI DE CONJUGARE A FICATULUI LA ANIMALE CU FICATUL LEZAT ȘI LA ANIMALE TRATATE CU VITAMINA B_{12}

DE

L. VAISLER, JEANA BIENER și EMMA COSTINER

În cercetări anterioare [8], [11], [12], [18] am arătat că tetraclorura de carbon produce grave alterațiuni ale celulei hepatice.

S-a constatat că studierea funcției de conjugare a ficatului reprezintă un test fidel pentru aprecierea capacității funcționale a celulei hepatice.

Pe de altă parte am arătat [1] că, după administrarea acidului benzoic, cantitatea totală de acid glucuronic conjugat eliminat prin bilă este mică, majoritatea reintrînd în circulația generală, lucru de altfel demonstrat prin prezența unei cantități crescute de acid glucuronic în sînge.

Diferitele noastre lucrări [9], [19] cu vitamina B_{12} au demonstrat că această substanță are reale proprietăți hepatoprotectoare, protejînd hepatocitul împotriva toxicului și stimulînd diferite metabolisme hepatice.

În lucrarea de față ne-am propus să studiem funcția de conjugare a ficatului la animale tratate cu vitamina B_{12}, precum și la animale cu ficat lezat prin CCl_4.

MATERIAL ȘI METODĂ

Am lucrat pe patru cîini adulți, în greutate de 14—18 kg. Animalelor li s-a creat pe cale chirurgicală o fistulă colecistică cronică, cu ligatură de coledoc, și li s-a administrat un regim alimentar standard. În zilele cînd se făceau dozările de acid glucuronic fiecărui animal i se injecta pe cale intravenoasă cîte 3 g benzoat de sodiu, apoi animalele erau puse la stativ și primeau un excitant alimentar (100 g carne). Bila se recolta din oră în oră, timp de 6 ore. La 3 ore de la administrarea substanței se lua o priză de sînge pentru determinarea acidului glucuronic în sînge.

Dozările de acid glucuronic total se făceau în eșantioanele orare de bilă, după metoda de dozare a lui Fishman [4]. În prima etapă experi-

mentală, care constituie perioada martor (fond fiziologic), s-au făcut dozări de acid glucuronic fără ca animalele să fi primit vreun tratament. În a doua etapă animalele au fost împărţite în 2 loturi de cîte 2 animale.

Animalele din lotul I au primit o cantitate de 0,1 ml CCl_4 pe kg corp, timp de 30 zile, iar cele din lotul II au primit timp de 30 zile cîte 300 mg vitamină B_{12} zilnic. Dozările de acid glucuronic total s-au făcut în bilă şi în sînge.

REZULTATE ŞI DISCUŢII

Rezultatele sînt prezentate în tabelă şi reprezintă media determinărilor din cele două etape experimentale.

Tabelă

Influenţa intoxicaţiei cu CCl_4 şi a tratamentului cu vitamina B_{12} asupra eliminării biliare a acidului glucuronic conjugat, după administrarea benzoatului de sodiu (mg acid glucuronic la 100 ml bilă sau sînge)

Lotul	Perioada (ora)	Ciinele I		Ciinele II	
		fond fiziologic	după tratament	fond fiziologic	după tratament
I. Animale intoxicate cu CCl_4	în bilă				
	I	18,52	4,19	10,80	2,76
	II	27,97	2,47	20,94	4,52
	III	26,22	2,70	20,70	3,37
	IV	18,90	6,10	23,12	10,50
	V	14,65	10,18	20,77	5,50
	VI	17,86	3,36	18,34	10,00
	total	124,12	29,00	114,67	36,65
	diferenţa %	—	−82,15	—	−68,04
	în sînge				
	III	16,5	9,4	17,8	11,90
	diferenţa %	—	−43,1	—	−27,6
II. Animale tratate cu vitamina B_{12}	în bilă				
	I	17,76	19,52	9,83	13,11
	II	26,71	24,76	23,62	24,25
	III	24,32	34,61	19,19	17,37
	IV	15,52	26,57	13,35	9,87
	V	13,19	29,52	16,99	18,35
	VI	11,83	22,76	9,12	15,53
	total	109,33	157,75	92,10	98,48
	diferenţa %	—	+44,28	—	+ 6,92
	în sînge				
	III	15,5	14,0	17,2	13,30
	diferenţa %	—	− 9,7	—	−22,7

Din analiza acestor rezultate reiese că la animalele din lotul I eliminarea biliară a acidului glucuronic total în primele 6 ore scade foarte mult, în urma administrării de tetraclorură de carbon, cu 82,15 și 68,04% față de perioadele respective de fond fiziologic.

La animalele lotului II eliminarea biliară a acidului glucuronic total în primele 6 ore crește în urma tratamentului cu vitamină B_{12}, cu 44,28 și 6,92% față de perioada de fond fiziologic.

În sînge, la 3 ore, acidul glucuronic scade la ambele loturi.

Din rezultatele prezentate reiese că la animalele cu ficat lezat (lotul I) funcția de conjugare a ficatului este grav compromisă, detoxicarea acidului glucuronic conjugat eliminat prin bilă și sînge este redusă. Probabil că o mare parte din acidul benzoic injectat trece prin ficat, direct în circulația sangvină, fără a mai fi supus proceselor de conjugare, și se elimină ca atare prin urină.

În experiențe anterioare [10], [11], am constatat că ficatul lezat își pierde capacitatea de a metaboliza tiroxina, care se regăsește în cantitate mare în circulație.

Lucrările lui R. O. Recknagel și colaboratori [16] au arătat că tetraclorura de carbon, hepatoxic prin excelență, alterează sistemele enzimatice ale celulei hepatice, provocînd în primul rînd decuplarea oxidării fosforilante, scăderea oxidațiilor substraturilor ciclului lui Krebs și pierderea funcțiilor hepatice specifice. Lucrul acesta se însoțește de o scădere masivă a rezervelor de glicogen hepatic și de infiltrația cu grăsimi a ficatului.

Știut fiind că funcția de conjugare și detoxicare a ficatului este dependentă de metabolismul hidrocarbonaților, credem că prin alterarea acestui metabolism este angrenat și perturbat și mecanismul de conjugare.

Cum am arătat într-o altă lucrare [7], între funcțiile glicogenică și biligenetică a ficatului există relații sinergice.

Deoarece în intoxicația prin tetraclorură de carbon scade secreția de glicogen, datele prezentate în lucrarea de față, care arată perturbări ale funcției de conjugare, confirmă ipoteza noastră despre legăturile funcționale ale celor trei metabolisme esențiale ale ficatului.

Pe de altă parte, rezultatele obținute la animalele din lotul II arată că după tratamentul cu vitamină B_{12} funcția de conjugare a ficatului este nealterată, valorile înregistrate depășind valorile găsite la martori. Aceste date confirmă rezultatele noastre anterioare cu privire la acțiunea hepatoprotectoare a acestei vitamine.

Este cunoscut că vitamina B_{12} stimulează sistemele enzimatice ale ficatului, protejînd mitocondriile celulare față de agresiunile substanțelor toxice [5], [6], [9], [19].

Masiva scădere a glucuronoconjugaților din sînge, concomitentă cu scăderea glucuronoconjugaților din bilă sub acțiunea CCl_4 pledează pentru faptul că ficatul și-a micșorat capacitatea de detoxicare, substanțele trecînd nemetabolizate. Vitamina B_{12} produce o scădere slabă a glucuronoconjugaților din sînge, compensată prin creșterea eliminării prin bilă, ceea ce pledează de asemenea pentru îmbunătățirea funcției hepatice.

Rezultatele noastre arată că vitamina B_{12} accelerează procesele de conjugare, stimulînd deci funcţiile de detoxicare ale hepatocitului. Aceste date vin în sprijinul acelor autori care, folosind vitamina B_{12} în clinica afecţiunilor hepatice, au obţinut rezultate bune [2], [3], [13], [14], [15], [17].

CONCLUZII

Studiul funcţiei de conjugare reprezintă un test fidel pentru aprecierea stării funcţionale a ficatului.

Intoxicaţia prin tetraclorură de carbon produce grave alterări ale ficatului, lezînd funcţiile de bază ale celulei hepatice.

Vitamina B_{12} stimulează funcţia de conjugare, comportîndu-se deci ca o substanţă hepatoprotectoare.

Institutul de endocrinologie
„Prof. C. I. Parhon", Bucureşti

Prezentată la redacţie la 13 iunie 1960

ИССЛЕДОВАНИЕ СОПРЯЖЕННОЙ ФУНКЦИИ ПЕЧЕНИ У ЖИВОТНЫХ С ПОРАЖЕННОЙ ПЕЧЕНЬЮ И У ЖИВОТНЫХ, КОТОРЫМ ВВОДИЛИ ВИТАМИН B_{12}

РЕЗЮМЕ

Авторы исследовали сопряженную функцию печени у животных с интоксикацией печени, вызванной четыреххлористым углеродом, и у животных, которым вводили витамин B_{12}.

Они проследили за выделением общей глюкуроновой кислоты из желчи, после введения бензоата натрия собакам с хронической холецистической фистулой и с перевязанным общим желчным протоком.

Результаты показывают, что у животных с пораженной печенью сопряженная функция печени серьезно изменена; общая глюкуроновая кислота выделялась в меньшем количестве (от 68 до 82,15%), по сравнению с контрольными цифрами. Сходные значения найдены и в крови.

У животных же, которым вводили витамин B_{12}, происходит стимуляция сопряженной функцией; общая глюкуроновая кислота выделялась в тот же промежуток времени в количестве, превышающем контрольные цифры на 6,92 — 44,28%.

На основании полученных результатов авторы считают, что существует тесная связь между желчеобразовательной, гликогенной и сопряженной функциями печени.

RECHERCHES SUR LA FONCTION DE CONJUGAISON DU FOIE CHEZ LES ANIMAUX AU FOIE LÉSÉ ET CHEZ LES ANIMAUX TRAITÉS À LA VITAMINE B_{12}

RÉSUMÉ

Les auteurs ont étudié la fonction de conjugaison du foie chez des animaux soumis à l'intoxication au tétrachlorure de carbone ou au traitement à la vitamine B_{12}.

L'élimination de l'acide glycuronique total de la bile, après administration de benzoate de soude, a été contrôlée chez des chiens porteurs d'une fistule chronique du cholécyste et ligature du cholédoque.

Les résultats prouvent que, chez les animaux au foie lésé, la fonction de conjugaison du foie est gravement altérée et l'élimination d'acide glycuronique total réduite, étant inférieure de 68 à 82,15% par rapport aux témoins. Des valeurs analogues se retrouvent dans le sang.

Les animaux traités à la vitamine B_{12} présentent, par contre, une stimulation de la fonction de conjugaison, l'élimination d'acide glycuronique total enregistrant, pour un même laps de temps, des chiffres plus élevés que chez les témoins (6,92—44,28%).

Par suite de ces résultats, les auteurs estiment qu'il y a d'étroites relations entre la fonction biligénique, la fonction glycogénique et la fonction de conjugaison du foie.

BIBLIOGRAFIE

1. BIENER J., COSTINER E., VAISLER L., Studii și cercetări de biochimie, *3*, 335 (1960).
2. BOSELLI A., *Minerva Medica*. 1958, 49.
3. ЕПИФАНОВА Е. Н., Витамины, Ленинград, **V**, 151 (1958).
4. FISHMAN I., citat după QUICK, J. Biol., Chem. **97**, 403 (1932).
5. KASBEKAR D. K., LAVATE W. V., REGE D. V., SREENIVASAN A., Bioch. Journal, **72**, *3*, 374 (1959).
6. — Bioch. Journal, **72**, *3*, 384 (1959).
7. MILCOU S. M., VAISLER L., COSTINER E., Annales d'Endocrinologie, *1*, 6 (1958).
8. MILCU ȘT.-M., VAISLER L., COSTINER E., Studii și cercetări de endocrinologie, *2*, 207 (1957).
9. — Comunicările Acad. R.P.R., *9*, 953 (1958).
10. MILCU ȘT.-M., VAISLER L., ANTONESCU N., COSTINER E., Comunicările Acad. R.P.R., *3*, 249 (1960).
11. MILCU ȘT.-M., VAISLER L., COSTINER E., ANTONESCU N., Comunicările Acad. R.P.R., VI, *11*, 1331 (1956).
12. MILCU ȘT.-M., VAISLER L., COSTINER E., NEGOESCU I., Comunicările Acad. R.P.R., VI, *10*, 1137 (1956).
13. ПЕТРОВСКИЙ В. И. Витамины, Ленинград, **V**, 114 (1958).
14. — Витамины, Ленинград, **V**, 120 (1958).
15. — Витамины, Ленинград, **V**, 125 (1958).
16. RECKNAGEL R. O., ANTHONY D. D., J. Biol. Chem., **234**, *5*, 1052 (1959).
17. САРКЕВИЧ И. М., Проблемы эндокринологии и гормонотерапии, *4*, 18 (1959).
18. VAISLER L., BIENER J., Studii și cercetări de endocrinologie, *1*, 131 (1960).
19. VAISLER L., BIENER J., COSTINER E., Studii și cercetări de biochimie, *3*, 281 (1960).

COMPORTAREA PROTEINELOR CEREBRALE ACVOSOLUBILE ÎN PROCESUL DE SALIFIERE ŞI DESALIFIERE*)

DE

MIHAIL ŞERBAN

Într-o lucrare anterioară [1] am pus în evidenţă diferenţierea calitativă a proteinelor cerebrale acvosolubile în dependenţă de evoluţia creierului pe plan filogenetic. Cu ocazia efectuării acelor cercetări, am stabilit gradul de heterogenitate diferit al proteinelor cerebrale în cursul evoluţiei, precum şi unele particularităţi distinctive ale lor în scara vertebratelor.

Rezultatele obţinute au deschis perspectiva extinderii cercetărilor privind corelaţia dintre gradul de diferenţiere a fracţiunilor proteice din creier şi evoluţia filogenetică, în scopul stabilirii unor particularităţi noi, care să permită o caracterizare mai profundă a acestor fracţiuni şi totodată să evidenţieze, alături de aspectele specifice diferenţiale şi pe acelea comune care stau la baza proteinelor cerebrale în filogenie. Am considerat ca o cale adecvată acestui scop fracţionarea proteinelor cerebrale în procesul de salifiere şi desalifiere, pornind de la presupunerea că diferitele tipuri de proteine acvosolubile din creier ar putea să manifeste în acest proces anumite caracteristici, dependente de natura şi structura moleculelor respective şi care se reflectă în caracterul lor de solubilitate.

În această lucrare se expun rezultatele referitoare la comportarea la salifiere şi desalifiere a proteinelor acvosolubile din creierul de şobolan, ca un caz general, urmînd ca într-o notă viitoare să prezentăm şi să generalizăm datele referitoare la comportarea proteinelor cerebrale pe întreaga scară filogenetică a vertebratelor.

Precizăm că cercetări în scopul indicat de noi nu se găsesc încă semnalate, şi că, în general, cercetările moderne privind fracţionarea pro-

*) Lucrare comunicată în cadrul Sesiunii ştiinţifice a Institutului de biochimie, din februarie 1960.

teinelor acvosolubile din creier pe cale chimică în vederea stabilirii comportării lor în acest proces, practic, lipsesc. Menționăm totuși, că în 1959 W. Dingman, M. B. Sporn și R. K. Davies [2] au efectuat o fracționare a proteinelor din creierul de șobolan prin precipitare salină în scopul urmăririi încorporării unor aminoacizi marcați și a stabilirii activității funcționale a fracțiunilor. De asemenea, A. V. Palladin, N. M. Poliakova și T. P. Silici [3], cercetînd comparativ proteinele din creier și nervi, au folosit precipitarea salină pentru o anumită concentrație în vederea evidențierii deosebirilor dintre compoziția proteică a nervului și cea a creierului — deosebiri stabilite prin alte căi experimentale. Menționăm în fine, că în literatură sînt semnalate o serie de cercetări în care incidental a fost aplicată precipitarea salină sau cu solvenți nepolari, în scopul obținerii unor proteine din creier bogate în anumite componente, în speță fier și cupru.

MATERIAL ȘI METODE

Pentru extracția proteinelor acvosolubile și obținerea soluțiilor proteice respective s-a procedat astfel : creierul scos imediat după decapitare a fost spălat cu soluție fiziologică, după care s-a uscat pe hîrtie de filtru. O probă medie conținînd 4—5 creieri de șobolani de vîrstă mijlocie, se cîntărea și după aceea se îngheța cu aer lichid și se dezgheța, folosind triturarea cu nisip de cuarț ; dezghețarea se făcea de asemenea în prezența extractantului, soluție de clorură de sodiu 0,15 M, raportul de extracție fiind 1 parte în greutate creier și 2,5 părți soluție extractantă. Omogenatul era apoi supus extracției timp de aproximativ 18 ore la +4°C, după care se centrifuga mai întîi la 2 000 g pentru îndepărtarea resturilor celulare și ulterior la 15 500 g, obținîndu-se un supernatant limpede. Dozarea proteinelor extrase s-a făcut prin metoda biuretului [4] ca și prin micrometoda cu albastru de bromfenol [5] [6].

O parte din soluția proteică obținută a fost destinată fracționării prin precipitare salină, iar altă parte pentru desalifiere. Fracționarea proteinelor prin salifiere comportînd un sistem de patru variabile independente (natura și concentrația sării, concentrația proteică, pH-ul și temperatura) am stabilit în prealabil influența tuturor acestor parametri. Am efectuat astfel fracționarea proteinelor acvosolubile din creier folosind ca agent salin sulfatul de amoniu, pH 6,8 — 7, temperatura +4°C, timpul de precipitare variind după caz între 4 și 20 ore ; concentrația proteică a fost cuprinsă între 1,7 și 2 g%. Precizăm că dintr-o serie de agenți de precipitare încercați (sulfatul de sodiu, sulfatul de amoniu, alcoolul, acetona) sulfatul de amoniu s-a dovedit cel mai convenabil și mai adecvat agent de salifiere a proteinelor cerebrale. În plus, sulfatul de amoniu, datorită solubilității sale, permite realizarea unor forțe ionice mari, deci a unei scări mai detaliate de fracționare, ceea ce ne-a făcut, de asemenea, să preferăm acest agent.

Fracționarea prin salifiere a comportat două procedee : *a*) la volume determinate de soluție proteică inițială se adăugau volume convenabile

de soluţie saturată de sulfat de amoniu, încît să se realizeze o gamă largă de concentraţii ale reactivului de salifiere; *b*) la un volum determinat de supernatant, obţinut la o anumită treaptă de precipitare, se adăuga volumul de soluţie saturată de sulfat de amoniu necesar pentru realizarea unei noi trepte de precipitare, ţinîndu-se seama de concentraţia deja existentă în sulfat de amoniu din supernatantul respectiv; se proceda astfel în mod similar pînă la obţinerea unei forţe ionice care determina scoaterea totală din soluţie a proteinelor.

Prin aplicarea primului procedeu am realizat salifierea la concentraţiile: 20; 25; 28; 33; 38; 43; 46; 50; 53; 55; 58; 60; 64%, iar prin al doilea procedeu la 25; 38; 47; 55; 80%. Precipitarea se efectua în condiţiile amintite prin adăugarea lentă şi sub agitare a volumului respectiv din soluţia de sulfat de amoniu, după care se lăsa în repaos timpul stabilit. Ulterior se centrifuga la 2 000 g, după care lichidul de centrifugare clar se separa.

Pentru diferitele trepte de fracţionare a proteinelor am determinat mai întîi concentraţia proteică. Cu toate avantajele pe care le are pentru fracţionarea proteinelor, sulfatul de amoniu prezintă totuşi inconvenientul că determinarea directă a concentraţiei proteice, atît prin metoda Parnas cît şi prin cea a biuretului, este imposibilă datorită prezenţei ionului amoniu. De aceea, pentru dozarea proteinelor am aplicat micrometoda cu albastru de bromfenol, după fracţionarea lor cu sulfat de amoniu. Evaluarea cantitativă a spoturilor s-a efectuat la fotometrul Pulfrich (cuva $d = 0{,}5$, filtrul cu $\lambda = 575$ mμ), iar extincţiile respective s-au interpolat pe o curbă standard realizată în condiţii similare, pornind de la o concentraţie proteică determinată prin metoda microkjeldahl. Determinarea concentraţiilor proteice s-a făcut şi pe cale polarografică, folosind soluţia test Brdicka [7] şi următoarele condiţii: tensiune 3,8 V, sensibilitatea galvanometrului 1/50, timpul de picurare 2,8 s, temperatura + 22°C.

În vederea analizei electroforetice, supernatantele provenite de la salifiere au fost supuse dializei mai întîi faţă de apa distilată, apoi faţă de tamponul de electroforeză, veronal-veronal sodic; ulterior, soluţia proteică se concentra fie prin perevaporare, fie faţă de o soluţie 25% de polivinilpirolidonă.

Precipitatele respective, provenite de la fiecare grad de salifiere, au fost spălate cu un amestec conţinînd soluţie saturată de sulfat de amoniu şi soluţie de clorură de sodiu 0,15 M într-o astfel de concentraţie, încît să se păstreze raportul iniţial de precipitare pentru fiecare caz în parte. Aceste precipitate se dizolvau apoi într-un volum minim de soluţie de clorură de sodiu 0,15 M — în special cele obţinute de la grade de salifiere mai mari — iar cele obţinute la grade de salifiere pînă la 42—46% au fost dizolvate de preferinţă în soluţie de hidroxid de sodiu 0,1 N. Soluţiile proteice, obţinute prin redizolvarea precipitatelor, au fost supuse unei dialize scurte contra unei soluţii de clorură de sodiu 0,07 M şi apoi analizate electroforetic.

Pentru urmărirea comportării la desalifiere o altă parte a soluţiei proteice iniţiale s-a dializat contra apei distilate la + 4°C, cu schimbare

la intervale de 10—15 ore; după prima treaptă de fracţionare, care se producea la aproximativ 50 ore, dializa era întreruptă, precipitatul format se relua într-un volum minim de hidroxid de sodiu 0,1 N (sau clorură de sodiu 0,15 M) şi se analiza electroforetic. O parte din supernatantul respectiv se analiza de asemenea electroforetic, iar altă parte se punea în continuare la dializă faţă de apa distilată. La aproximativ 20—22 ore se producea o nouă precipitare şi după separarea celor două faze precipitatul se dizolva în soluţie de clorură de sodiu, 0,15 M şi se analiza electroforetic împreună cu supernatantul respectiv.

Analizele electroforetice s-au efectuat în soluţie tampon veronal-veronal sodic de pH 8,6, forţă ionică = 0,05 şi în următoarele condiţii de migrare: tensiunea 8V/cm, intensitate 0,3 mA/cm, durata 9 ore, temperatura + 18°C. Estimarea benzilor electroforetice s-a făcut cu integratorul MGF Berlin.

REZULTATE ŞI DISCUŢII

Fracţionarea prin salifiere şi desalifiere a proteinelor cerebrale acvosolubile combinată cu analiza electroforetică, a scos în evidenţă comportarea particulară a acestor proteine. Din acest punct de vedere, comparativ cu proteinele serice respective, proteinele din creier se comportă cu totul deosebit ceea ce indică anumite caracteristici specifice naturii lor.

Aşa cum am arătat anterior [1], proteinele cerebrale acvosolubile se caracterizează, în special pentru mamifere, printr-un grad mare de heterogenitate. Deşi prin migrare în cîmp electric au fost puse în evidenţă 9—10 tipuri de fracţiuni proteice, totuşi, din punct de vedere al solubilităţii, aceste fracţiuni proteice manifestă caractere apropiate care le diferenţiază mai puţin. Pragul de salifiere la care încep să se sesizeze modificări calitative la nivelul fracţiunilor separabile electroforetic ale proteinei totale este destul de ridicat şi anume din jurul semisaturării. Deşi, aşa cum rezultă din tabela 1, o cantitate însemnată de proteine este precipitată din soluţie, totuşi, prin analiza atît a supernatantelor cît şi a precipitatelor obţinute pînă la acest grad de salifiere, se constată că spectrul electroforetic, ca număr de fracţiuni, nu este afectat. Analiza electroforetică a supernatantului provenit chiar de la

Tabela 1

Variaţia procentuală a concentraţiei proteice la anumite grade de salifiere

Concentraţia proteică mg%	Salifiere %	Proteine în supernatant %	Concentraţie proteică mg%	Salifiere %	Proteine în supernatant %
2 000	20	95,0	2 000	50	39,0
2 000	28	81,2	2 000	55	20,3
2 000	38	72,0	2 000	60	13,1
2 000	43	56,0	2 000	64	9,6

fracţionarea la 50% indică prezenţa tuturor fracţiunilor proteice care se întîlnesc şi în spectrul electroforetic al proteinei totale şi că modificări esenţiale prin precipitarea preferenţială a unora din aceste fracţiuni nu se produc (fig. 1). Precizăm însă că de la 46—50% saturare în sulfat de amoniu începe să se sesizeze şi în precipitat prezenţa heterogenă a fracţiunilor electroforetice din supernatant cu mobilitate mică şi medie. Diferenţe mai semnificative se observă începînd de la gradul de salifiere 55%, cînd din supernatant încep să dispară anumite fracţiuni („8"), iar celelalte, a căror prezenţă se mai constată încă, sînt totuşi antrenate în precipitare. La precipitatele respective se constată existenţa tuturor fracţiunilor proteice, deşi în supernatant rămîn încă unele fracţiuni care sînt destul de evident exprimate pe banda electroforetică. Gradele de salifiere 60—64% aduc o simplificare marcantă în ce priveşte existenţa majorităţii fracţiunilor proteice din supernatant; la aceste trepte fracţiunile „2" şi „3", deşi încep să precipite o dată cu celelalte fracţiuni, apar totuşi ca cele mai rezistente în procesul de salifiere, deci cu caractere de solubilitate ceva mai pronunţate. De la 66% concentraţie în sulfat de amoniu în sus, din cauza cantităţii mici de proteine rămasă, în supernatant nu se mai poate decela electroforetic nici o fracţiune. Analiza soluţiilor proteice, obţinute prin dizolvarea precipitatelor din jurul acestui grad de salifiere, indică prezenţa majorităţii fracţiunilor proteice întîlnite şi la proteina totală.

Rezultatele acestea sînt expuse în tabela 2, unde prin semnul + am desemnat prezenţa fracţiunilor proteice în supernatant la diferite

Tabela 2

Distribuţia diferitelor fracţiuni proteice în funcţie de salifiere (supernatant)

Gradul de salifiere %	Fracţiuni									
	a_2	a_1	1	2	3	4	5	6	7	8
33	+	+	+	+	++	+	+	+	++	+
50	+	+	+	+	++	+	+	+	+	(+)
55	+	(+)	(+)	+	++	+	+	(+)	(+)	−
60	−	−	(+)	+	++	(+)	(+)	(+)	−	−
63	−	−	−	(+)	+	−	−	−	−	−
66	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−

grade de salifiere, iar prin semnul (+) am desemnat fracţiunile care au fost deja afectate şi care apar în supernatant numai ca urme. Din tabelă reiese totodată intervalul de precipitare a diferitelor fracţiuni separate electroforetic. Precizăm că, pe baza criteriilor stabilite în lucrarea anterioară, fracţiunile a_2 şi a_1 au fost denumite prealbuminice, (uneori merg în bloc) fracţiunea „1" ar corespunde după analogia mobilităţii cu albumina serică, iar restul fracţiunilor cu diferite globuline.

Din rezultatele expuse reiese că unele modificări induse de salifiere se manifestă numai în jurul cîtorva puncte importante şi că, în general, pentru cazurile discutate nu există o fracţionare cu un anumit caracter preferenţial. Urmărind fracţionarea proteinelor cerebrale acvosolubile

în procesul de desalifiere, am constatat, în general, aceeaşi comportare, tradusă prin faptul că nu are loc o fracţionare selectivă la nivelul fracţiunilor proteice propriu-zise; în supernatantele provenite de la cele două etape de desalifiere sînt prezente toate sau majoritatea fracţiunilor proteice cunoscute.

Considerăm că aceste comportări prezintă o caracteristică pentru proteinele din creier, la care atît salifierea cît şi desalifierea nu determină pentru cazurile menţionate pînă acum o fracţionare selectivă, aşa cum se produce de exemplu, în anumite limite, cu proteinele serice. Credem că această comportare s-ar putea explica prin faptul că tipurile de fracţiuni evidenţiate electroforetic au o natură superficială apropiată ceea ce se reflectă în caracterele lor de hidrofilie; aceste fracţiuni prezintă potenţiale electrocinetice mai mult sau mai puţin diferite, totuşi, datorită fie repartiţiei, fie proporţiei grupărilor superficiale polare, ele manifestă solubilităţi apropiate. Nu este exclus de asemenea ca anumite fracţiuni separabile electroforetic ale proteinelor cerebrale să fie purtătoare ale unor componente chimice neproteice, care să le confere proprietăţi de solubilitate mai apropiate de ale celorlalte.

Comportarea la salifiere constatată, respectiv caracterele de solubilitate apropiate pe care le prezintă fracţiunile proteice cu mobilitate electroforetică diferită, ridică problema naturii [8] acestor fracţiuni. Majoritatea lucrărilor care s-au ocupat de separarea în cîmp electric a proteinelor cerebrale denumesc în mod arbitrar, diferitele fracţiuni electroforetice „prealbumine", „albumine" sau „globuline", prin analogie cu ordinul de mobilitate relativă a fracţiunilor serului respectiv. Rezultatele furnizate de comportarea la fracţionarea salină a proteinelor cerebrale ne-au dus însă la constatarea că criteriul definirii apartenenţei tipurilor de proteine cerebrale la o grupă sau alta, pe baza comparării ordinului de mobilitate, nu corespunde proprietăţilor de solubilitate ale acestor fracţiuni. Din datele obţinute reiese, aşa cum am arătat, că începînd din jurul treptei de salifiere 50% încep a fi atacate, aproape simultan, majoritatea fracţiunilor proteice şi că fracţiunile care posedă mobilitatea electroforetică analoagă cu a albuminei serice, sau mai mare, nu sînt fracţionate selectiv, ci precipită împreună cu fracţiunile care pe baza ordinului de solubilitate corespund globulinelor serice. Chiar fracţiunile („2" şi „3") care sînt mai rezistente la fracţionare, se încadrează după mobilitatea lor electroforetică în grupa „globulinelor", cu toate că prezintă, într-un anumit grad, proprietăţi de solubilitate care, în mod teoretic, ar trebui să le confere altă apartenenţă. Deci, din caracterele de solubilitate evidenţiate atît prin salifiere, cît şi prin desalifiere, diferitele fracţiuni ale proteinei cerebrale, prin natura lor, nu pot fi încadrate riguros în „albumine" sau „globuline"; din contră, după proprietăţile lor de solubilitate, se pare că în componenţa proteinelor cerebrale ar intra exclusiv fracţiuni de natură globulinică. În orice caz, stabilirea naturii diferitelor tipuri de proteine cerebrale rămîne încă o problemă deschisă şi, în acest sens, cercetări de imunoelectroforeză pot aduce contribuţiuni mai concludente.

Un alt fapt, pe care cercetările noastre l-au pus în evidenţă, este comportarea proteinelor cerebrale la diferite trepte de salifiere pînă în

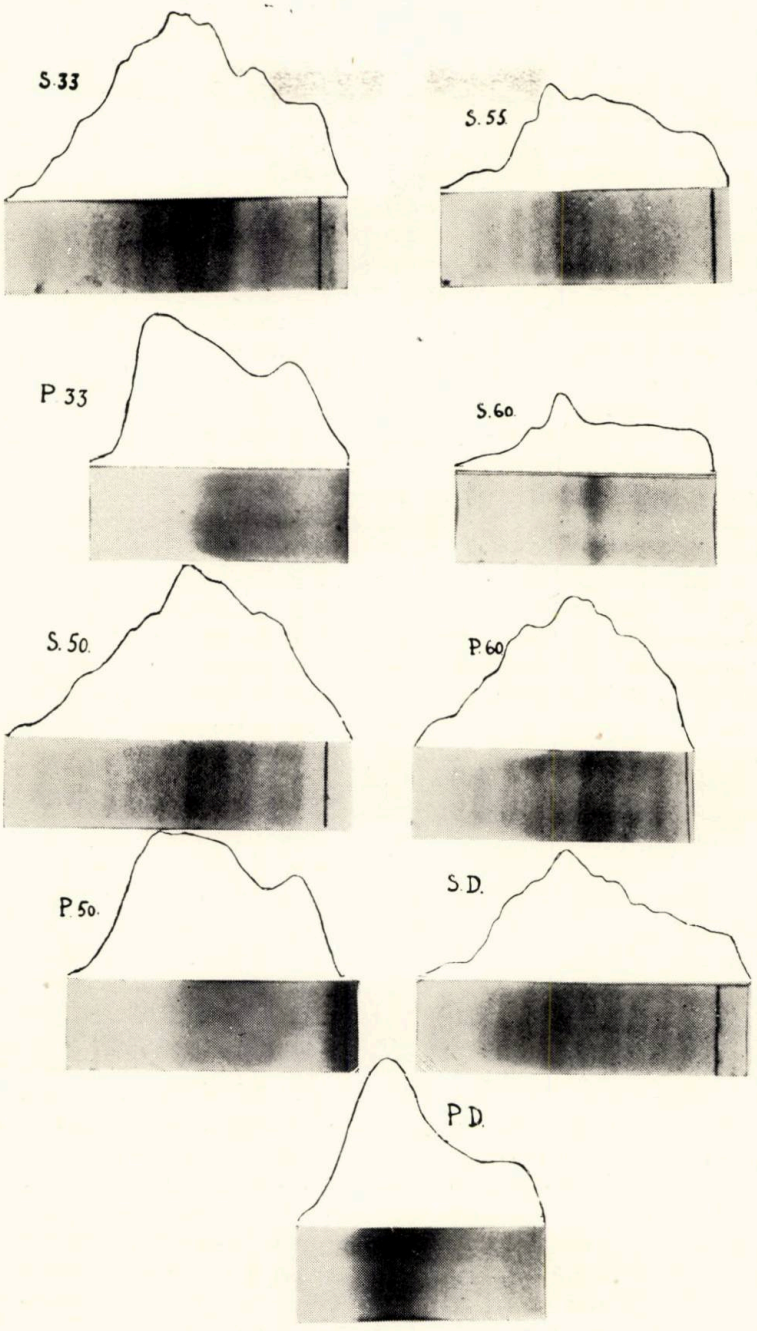


Fig. 1. — Electroforegramele la diferite grade de salifiere.
S = supernatant ; P =precipitat ; D = desalifiere.

apropiere de semisaturare. Aşa cum rezultă din tabelele 1 şi 2, deşi pînă la aceste trepte se produce o precipitare evidentă, totuşi fracţiunile proteice propriu-zise, separate electroforetic, nu sînt afectate. Analiza electroforetică atît a supernatantelor, cît şi a precipitatelor obţinute la grade de salifiere între 28 şi 46%, indică diferenţe nete între compoziţia lor. Astfel, în acest domeniu de salifiere, spectrul electroforetic al supernatantelor prezintă, ca număr de fracţiuni, identitate cu cel al proteinei totale. Totuşi, în supernatante, se sesizează modificări de altă natură care pot constitui unele indicaţii asupra mersului procesului de salifiere şi desalifiere. De exemplu, pe măsura creşterii gradului de salifiere, se observă o clarificare a supernatantului în sensul dispariţiei treptate a opalescenţei ce caracterizează soluţia proteinei totale care, deşi limpede privită prin transparenţă, prezintă sub un anumit unghi optic o oarecare opalescenţă. După părerea noastră, această opalescenţă s-ar datora nu atît unor infraparticule dispersate, cît existenţei unor combinaţii lipidice complexe, cu caracter acvosolubil şi cu alt indice de refracţie. De asemenea, clarificarea treptată a supernatantului cu gradul de salifiere se datoreşte scoaterii prin precipitare a acestor componente lipidice complexate şi care sînt afectate de creşterea forţei ionice pînă la un anumit grad.

Această constatare trebuie corelată cu faptul că analizînd prin electroforeză supernatantele provenite de la 28; 33; 38% salifiere se observă în ordinea menţionată o evidenţiere tot mai pronunţată şi o etalare mai delimitată a tuturor fracţiunilor proteice, fără ca ele să fi început a fi efectiv precipitate. Aceasta se produce prin dispariţia treptată de pe banda electroforetică a acelui fond colorat, continuu şi difuz, pe care sînt „grefate" majoritatea fracţiunilor electroforetice cu mobilitate medie, ceea ce face ca ele să devină mai proeminente şi mai clare decît în cazul proteinei totale, cînd acest fond interferă şi estompează fracţiunile migrate în regiunea respectivă. O primă clarificare evidentă a spoturilor electroforetice apare în jurul treptei 33—38% salifiere.

Cercetarea soluţiilor proteice rezultate prin redizolvarea precipitatelor la punctele de salifiere menţionate mai sus nu indică prezenţa fracţiunilor existente în supernatant pentru aceleaşi grade de salifiere, în schimb se constată în special la precipitatele de la 33 şi 38% salifiere existenţa unei fracţiuni (bloc) care, din punctul de vedere al migrării electroforetice este omogenă; aşa cum rezultă din figura 1 această fracţiune omogenă se situează, după mobilitate, în regiunea fracţiunilor cu mobilitate medie din supernatantul respectiv, deci tocmai în zona la care practic se extinde acel fond colorat. Corelînd această comportare cu observaţiile semnalate mai sus cu privire la modificările din supernatant pentru aceleaşi trepte de salifiere, am ajuns la presupunerea că această fracţiune precipitabilă la forţe ionice mai mici ar conţine complexe lipoproteice (o parte rămîn pe start).

Pentru argumentarea acestei presupuneri am efectuat coloraţia pentru lipoproteine atît în cazul precipitatului cît şi a supernatantului pentru aceleaşi grade de salifiere. Coloraţia pentru lipoproteine este pozitivă şi mai pronunţată în precipitatele de la 33—46% salifiere, iar spo-

turile respective, în general, coincid cu fracţiunea omogenă evidenţiată din aceleaşi precipitate prin coloraţia specifică pentru proteine. În acelaşi timp, începînd de la 25% salifiere, reacţia pentru lipoproteine din supernatant devine mai puţin pozitivă cu creşterea gradului de salifiere, ceea ce indică o scoatere treptată a lipoproteinelor prin precipitare salină.

Existenţa lipoproteinelor, care sînt fracţionate la grade de salifiere mai mici, a fost confirmată şi prin desalifiere, punîndu-se în evidenţă aceeaşi comportare ca şi la salifiere (fig. 1).

Coroborînd aceste date cu modificările semnalate la nivelul supernatantelor, reiese că clarificarea acestora şi implicit a fracţiunilor etalate

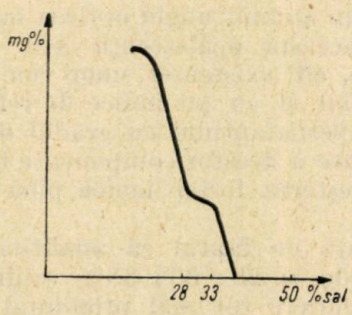


Fig. 2. — Variaţia cantităţii de colesterol în funcţie de gradul de salifiere.

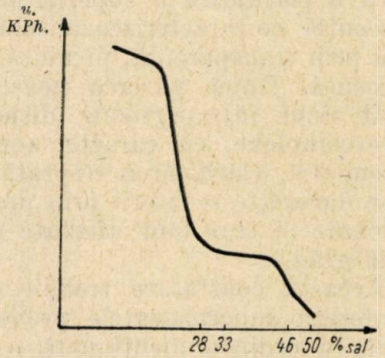


Fig. 3. — Variaţia lipidelor în funcţie de gradul de salifiere.

pe banda electroforetică se datoreşte procesului de epurare a acestor supernatante în componente lipoproteice.

Pentru evidenţierea caracterului lipoproteic al fracţiunii omogene care se separă preferenţial la concentraţiile ionice sub semisaturare, am urmărit în funcţie de gradul de salifiere, conţinutul în colesterol precum şi variaţia lipidelor [9], aceste componente constituind indici pentru aprecierea mersului fracţionării chimice a lipoproteinelor. Din figura 2, în care este redată variaţia conţinutului de colesterol din supernatant la diferite grade de salifiere, se observă că paralel cu scăderea acestui conţinut, în jurul punctului de 33% salifiere se produce o „treaptă" care indică un anumit fel de modificare şi că după acest punct supernatantul devine practic epurat în colesterol. Această „treaptă" coincide din punct de vedere electroforetic cu o primă evidenţiere a fracţiunilor pe banda electroforetică şi cu o primă clarificare a supernatantului rezultat de la acest grad de salifiere. De asemenea, din figura 3 unde pentru orientare este reprezentată variaţia lipidelor în general, în dependenţă de gradul de salifiere, se constată o reproductibilitate a fenomenului; se observă că, dat fiind conţinutul mai mare şi mai variat al lipoproteinelor în lipide decît în colesterol, epurarea supernatantului în lipide, respectiv lipoproteine apare în jurul semisaturării. Din curbă rezultă, ca şi la colesterol, că în intervalul 28 — 42% salifiere există o anumită modificare a com-

ponenței în lipoproteine care ulterior devin sensibil afectate de creșterea forței ionice.

Fracționarea componentelor cu caracter lipoproteic prin salifiere la forțe ionice mici și prin desalifiere, pune în evidență proprietățile de solubilitate diferite ale acestor componente.

Pe baza caracterelor de solubilitate putem conchide că lipoproteinele oferă, din punct de vedere structural, la suprafață, mai puține grupări polare hidrofile, ceea ce face ca ele să fie afectate primele, în mod preferențial, de cele două procese; totodată, numărul mai mic de grupări polare hidrofile libere pe care le posedă aceste lipoproteine face ca competiția dintre ionii salini și grupările hidrofile pentru fixarea moleculelor polarizate să fie mai mică și să favorizeze precipitarea la forțe ionice mai mici ale mediului salifiant.

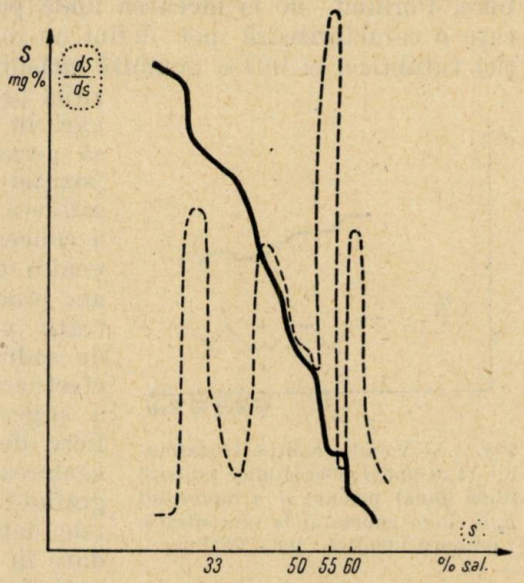


Fig. 4. — Curba de salifiere — linia plină; derivata curbei — linia punctată.

Aspectele generale și caracteristicele comportării proteinelor cerebrale acvosolubile în procesul de salifiere, descrise mai sus, au fost stabilite și și-au găsit confirmarea și prin efectuarea curbelor de salifiere. După cum rezultă din figura 4, deși proteinele cerebrale solubile au un grad mare de heterogenitate, se constată pe curba de salifiere puține puncte de inflexiune care evidențiază modificări de tip calitativ provocate de efectul salifierii. Aceasta confirmă datele analizei electroforetice și totodată caracterele de solubilitate apropiate ale diferitelor fracțiuni proteice. O primă modificare pe curbă se observă în intervalul de salifiere 28 — 42% care corespunde fracționării complexelor lipoproteice. În jurul punctului 46—53% salifiere se constată o altă modificare, cînd începe precipitarea mai evidentă a diferitelor fracțiuni proteice separabile în cîmpul electric; la 55—60% saturare în sulfat de amoniu apare pe curbă un alt punct angular, determinat de o nouă modificare a compoziției proteice, evidențiată prin precipitarea totală a unor fracțiuni și, în fine, la 60—64% cînd conținutul în proteine devine practic neglijabil.

Menționăm că curba de salifiere obținută prin determinări fotometrice, ca și valabilitatea metodei, au fost verificate pe cale polarografică; în ambele cazuri curbele de salifiere au prezentat același aspect și au indicat același mers al procesului de salifiere. De asemenea, men-

ţionăm că am calculat şi derivata curbei de salifiere $-\frac{dS}{ds}$ în funcţie de s, unde S reprezintă solubilitatea, iar s gradul de salifiere — obţinînd aceleaşi modificări în aceleaşi intervale de salifiere (linia punctată din figura 4).

Cercetările noastre au inclus, în fine, unele aspecte polarografice legate de ansamblul comportării proteinelor cerebrale în procesul de salifiere. Pornind de la ideea că unda polarografică proteică şi parametrii care o caracterizează pot defini nu numai valoarea cantitativă a reacţiei catalitice, ci într-o anumită măsură şi aspectul calitativ al compoziţiei proteice, am efectuat unele determinări în scopul obţinerii de indicaţii care să permită diferenţierea calitativă a compoziţiei proteice în funcţie de gradul de salifiere. Pe baza determinării prealabile a concentraţiei proteice a soluţiilor provenite de la diferite grade de salifiere, am procedat la egalarea acestor concentraţii prin diluare cu soluţie de clorură de sodiu 0,15 M; această egalare a fost efectuată în raport cu concentraţia proteică a supernatantului provenit de la o salifiere de 58—60%. Probele rezultate prin egalarea concentraţiilor au fost polarografiate în condiţiile amintite. Rezultatele determinărilor polarografice sînt redate în figura 5, linia plină reprezentînd variaţia înălţimii maximului II polarografic (h_2), iar cea punctată variaţia raportului h_2/h_1 la concentraţie proteică identică: $9{,}8 \cdot 10^{-2}$ mg. Pe baza procedeului descris determinările polarografice au confirmat rezultatele obţinute prin electroforeză şi curba de salifiere, precum şi concluziile noastre referitoare la comportarea proteinelor cerebrale acvosolubile la salifiere. După cum rezultă din cele două grafice, prin acest procedeu au fost puse în evidenţă, în general, aceleaşi tipuri de modificări la aceleaşi grade de salifiere pe care le prezintă proteinele cerebrale în acest proces.

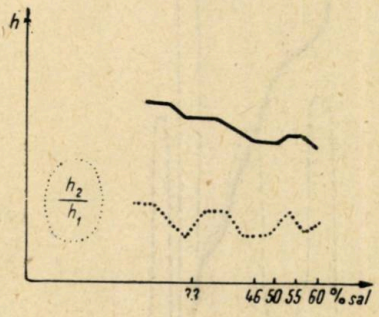


Fig. 5. — Variaţia înălţimii maximului II al undei polarografice proteice (linia plină) precum şi a raportului h_2/h_1 (linia punctată) la concentraţie proteică identică: $9{,}8 \cdot 10^{-2}$ mg.

CONCLUZII

Cunoştinţele noastre asupra substanţelor proteice din creier sînt încă destul de limitate [10]. Prin datele menţionate în această lucrare s-au adus unele contribuţii la cunoaşterea mai intimă a acestor proteine. S-au semnalat o serie de caracteristici pe care le prezintă proteinele cerebrale acvosolubile, pe baza comportării lor la salifiere şi desalifiere, precum şi a însuşirilor lor electrochimice. Astfel, diferitele tipuri de proteine, evidenţiate prin migrare în cîmp electric, manifestă caractere de solubilitate apro-

piate, ceea ce ar reflecta într-un anumit grad structura lor superficială. Paralel cu aceasta s-a semnalat faptul că anumite fracţiuni proteice, care după mobilitatea electroforetică sînt prin analogie denumite arbitrar „albumine" (respectiv „prealbumine") sau „globuline", nu pot fi încadrate riguros în aceste grupe pe baza comportării lor la salifiere şi desalifiere, deci după solubilitatea lor. În fine, s-a constatat că pentru anumite grade de salifiere sub semisaturare are loc o fracţionare chimică a unui complex cu proprietăţi particulare — pus în evidenţă şi prin desalifiere — şi care a fost caracterizat ca fiind de natură lipoproteică.

Institutul de biochimie,
Bucureşti

Prezentată la redacţie la 14 august 1960

ПОВЕДЕНИЕ РАСТВОРИМЫХ В ВОДЕ БЕЛКОВ МОЗГА В ПРОЦЕССЕ ЗАСАЛИВАНИЯ И ВЫСАЛИВАНИЯ

РЕЗЮМЕ

В ансамбле исследований касающихся соотношения между белками мозга и степенью филогенетической эволюции, было исследовано поведение растворимых в воде белков мозга крысы в процессе засаливания и высаливания.

Хотя эти белки очень гетерогенны, что выявляется миграцией в электрическом поле, различные типы белков представляют сходный характер растворимости. Предполагается, что это отражает в известной степени поверхностное строение этих типов белков, в которых содержание и распределение гидрофильных полярных групп более или менее одинаковы.

В то же время указывается на тот факт, что известные фракции, которые по электрофоретической подвижности названы по аналогии „альбуминами" (соответственно — „преальбуминами") или „глобулинами", нельзя строго включить в эти группы на основании их поведения при засаливании и высаливании. Далее констатируется, что при определенной степени засаливания ниже полунасыщения, имеет место химическое фракционирование белков мозга, путем выявления некоторой фракции, обладающей особыми качествами. Эту же фракцию выявили при высаливании. На основании данных электрофоретического анализа (протеинограммы и липидограммы), кривых изменения холестерола и липоидов вообще, а также на основании растворимости, эту фракцию характеризовали как липопротеиновую.

Специфическое поведение белков мозга при засаливании было также подтверждено кривой засаливания и полярографическими определениями.

ОБЪЯСНЕНИЕ РИСУНКОВ

Рис. 1. — Электрофореграммы при различных степенях засаливания; S — надосадочная жидкость; P — осадок; D — высаливание.

Рис. 2. — Изменения количества холестерола в зависимости от степени засаливания.

Рис. 3. — Изменение липоидов в зависимости от степени засаливания.

Рис. 4. — Кривая засаливания — непрерывная линия; производная кривой — пунктирная линия.

Рис. 5. — Изменение высоты II максимума полярографической белковой волны (непрерывная линия), а также отношения h_2/h_1 (пунктирная линия) при одинаковой белковой концентрации: $9{,}8.10^{-2}$ мг.

LE COMPORTEMENT DES PROTÉINES CÉRÉBRALES HYDROSOLUBLES AU COURS DU PROCESSUS DE SALIFICATION ET DÉSALIFICATION

RÉSUMÉ

Dans l'ensemble des recherches entreprises sur les corrélations entre les protéines cérébrales et le degré d'évolution phylogénétique, l'auteur a étudié le comportement des substances protéiques hydrosolubles du cerveau du rat, au cours du processus de salification et désalification.

En dépit de leur hétérogénéité marquée, mise en évidence par leur migration en champ électrique, les différents types de protéines manifestent des caractères de solubilité rapprochés. Le fait est supposé refléter, jusqu'à un certain degré la structure superficielle de ces types de protéines, qui présenteraient une proportion et une répartition des groupements polaires hydrophiles plus ou moins similaires.

Parallèlement, l'auteur relève le fait que certaines fractions — qui, vu leur mobilité électrophorétique, sont appelées, par analogie, « albumines » (respectivement, «préalbumines») ou «globulines» — ne peuvent être classées rigoureusement dans le cadre de ces groupements, en raison de leur comportement au cours des salification et désalification. On a également constaté que, pour certains degrés de salification au-dessous de la demi-saturation, il y a un fractionnement chimique des protéines cérébrales, mis en évidence par une fraction ayant des propriétés particulières; cette fraction a également été mise en évidence par la désalification. Grâce aux données fournies par l'analyse électrophorétique (protéinogrammes et lipidogrammes), par les courbes de variation du cholestérol et des lipides en général, ainsi que par les propriétés de solubilité, cette fraction est estimée être de nature lipo-protéique.

Le comportement particulier des protéines cérébrales à la salification a également été confirmé par la courbe de salification et par des déterminations polarographiques.

EXPLICATION DES FIGURES

Fig. 1. — Electrophorégrammes à différents degrés de salification ; S = surnageant ; P = précipité ; D = désalification.

Fig. 2. — Variations de la quantité de cholestérol, en fonction du degré de salification.

Fig. 3. — Variations des lipides, en fonction du degré de salification.

Fig. 4. — Courbe de salification (trait plein). Courbe dérivée (trait pointillé).

Fig. 5. — Variations de la hauteur du maximum II de l'onde polarographique protéique (trait plein) et du rapport h_2/h_1 (pointillé), à des concentrations protéiques identiques : $9{,}8 \cdot 10^{-2}$ mg.

BIBLIOGRAFIE

1. M. ŞERBAN, Studii şi cercetări de biochimie *3*, 309 (1959).
2. W. DINGMAN, M. B. SPORN, R. K. DAVIES, J. Neurochem., *4*, 154 (1959).
3. A. V. PALLADIN, N. M. POLIAKOVA, T. P. SILICI, Fiziol. jurn., *7*, 611 (1957).
4. A. G. GORNALL, C. J. BAEDAWILL, M. M. DAVID, J. Biol. Chem., *177*, 751 (1949).
5. S. K. DUTTA, Indian J. Med. Research, **46**, 299 (1958).
6. L. M. DZIALOSZYNSKI, *IV ter Internationale Kongress für Biochemie*, Wien, Secţ. 17—13, 199 (1958).
7. I. KOLTHOFF, J. LINGANE, *Polarography*. Interscience Publishers, New York, London, 1952, 849—857.
8. M. S. ANSON, J. T. EDSALL, Advances in protein chemistry, **III**, 407 (1952).
9. H. WALTER, F. NEPVEUX, P. NEPVEUX, La Presse Médicale, *54*, 1270 (1957).
10. F. N. LE BARON, Neurochemistry, Annual Review of Biochemistry, **28**, 583 (1959)

IDENTIFICAREA DERIVAȚILOR METABOLICI AI HIDRAZIDEI ACIDULUI IZONICOTINIC

DE

EUG. PĂUNESCU

În organism, hidrazida acidului izonicotinic, substanță bactericidă cu acțiune specific antituberculoasă, este supusă proceselor ordinare de detoxifiere, realizate în special la nivelul celulei hepatice.

Funcția antitoxică hepatică se exercită prin numeroase mecanisme. Astfel fenolul (provenit din degradarea oxidativă a proteinelor sau introdus în mod accidental) este transformat în sulfat neutru de fenil ($C_6H_5O.SO_3K$) și eliminat pe cale renală; acidul benzoic (provenit în special din oxidarea catenei laterale a fenil-alaninei) este cuplat cu glicocolul, rezultînd benzoil-glicocolați (hipurați) care de asemenea se elimină renal; acidul fenil-acetic (rezultat din oxidarea acizilor aromatici cu număr par de atomi de carbon în catena laterală) este eliminat renal după cuplare cu glutamina; compușii cu sulf sînt transformați în tioconjugați; alți metaboliți toxici sînt neutralizați prin procese de glucurono-conjugare etc.

Compușii toxici cu grupări terminale amido-, amino- și imido- sînt eliminați renal, după prealabilă detoxifiere prin procese de acetilare la nivelul celulei hepatice. Printre asemenea compuși se numără multe din medicamentele cu utilizare largă, cum sînt sulfonamidele, acidul *p*-amino-salicilic (PAS), hidrazida acidului izonicotinic (HIN) etc.

În afară de procesul de acetilare, în vederea vehiculării pînă la filtrul renal, HIN mai poate fi supusă acțiunii metaboliților intermediari care posedă grupări aldehidice sau cetonice. Dintre hidrazonele rezultate în urma acestor reacții, au fost identificate în urină în special cele ale acizilor α-cetonici (piruvic și cetoglutaric) [3].

Derivatul acetilat al HIN este lipsit de activitate antituberculoasă, ca și izonicotinoil-hidrazonele, acestea din urmă putînd dezvolta un efect tuberculicid numai în condițiile unui potențial de oxido-reducere suficient

de scăzut pentru a realiza hidroliza acidă a compusului şi punerea în libertate a HIN [3].

Într-o lucrare anterioară [4], am arătat că ionul vanadiu, în mediu puternic acid, poate reacţiona strict specific cu hidrazida acidului izonicotinic, dezvoltînd o culoare roşie-brună caracteristică. Această reacţie poate fi utilizată pentru decelarea prezenţei HIN în urină, constituind un test simplu, rapid şi comod pentru urmărirea conştiinciozităţii cu care îşi administrează HIN bolnavii care fac tratament antituberculos la domiciliu cu acest chimioterapic. Testul urinar pe bază de vanadat este pozitiv numai la persoanele care realizează o concentraţie sanguină de HIN peste pragul eficace bacteriostatic (0,75 — 1,0 μg HIN/ml), ceea ce permite utilizarea acestui test pentru stabilirea dozei eficiente de chimioterapic care trebuie administrată fiecărui bolnav în parte [5]. Diferenţa dintre cantitatea de HIN ingerată de bolnav şi cantitatea de HIN activă tuberculicid ce poate fi decelată în sînge este reprezentată de derivaţii metabolici ai HIN (acetil-HIN, izonicotinoil-hidrazone), care nu arată acţiune antituberculoasă [2].

În organismele care manifestă o intensă activitate a funcţiei detoxifiante hepatice, un mare procent din HIN ingerată este inactivată, concentraţia sanguină de HIN activă neatingînd nivelul bacteriostatic. În aceste cazuri, cu toate că derivaţii inactivi sînt eliminaţi renal, realizînd concentraţii importante în urină, testul urinar pentru decelarea HIN rămîne negativ. Aceasta sugerează că testul cu vanadat este pozitiv numai în prezenţa HIN active (libere).

Pentru verificarea acestei ipoteze este necesară cercetarea reactivităţii indicatorului cu vanadat în prezenţa derivaţilor metabolici ai HIN (acetil-HIN şi izonicotinoil-hidrazonele). În funcţie de rezultatele obţinute şi pe baza structurilor chimice ale moleculei de HIN care ia parte la aceste reacţii, se pot obţine informaţii preţioase şi pentru lămurirea reacţiei dintre HIN şi vanadat.

PREPARAREA REACTIVILOR

Reactivul cu vanadat [4] a fost obţinut prin dizolvarea în 20 ml apă distilată, a 0,1 g metavanadat de sodiu ($NaVO_3$) şi 0,1 g pentoxid de vanadiu (V_2O_5), în prezenţă de 2 g sulfat de amoniu şi 0,2 ml amoniac (concentraţie 25%). După dizolvare se adaugă 4 ml acid acetic glacial şi 1 ml acid sulfuric ($d = 1{,}84$). Volumul final se aduce la 100 ml cu apă distilată.

În prezenţa HIN reactivul dă o culoare roşie-brună intensă. Dacă mediul de reacţie conţine cantităţi mici de amoniac (cazul urinilor amoniacale) atunci, în 5—15 min de la adăugarea reactivului, nuanţa culorii slăbeşte în intensitate. Cu ajutorul acestui reactiv se pot pune în evidenţă cantităţi de ordinul a 50—75 μg HIN. Reactivul nu reacţionează cu sulfonamidele, PAS, penicilina, streptomicina, cicloserina, amidopirina etc., fiind strict specific pentru HIN.

Prepararea acetil-hidrazidei. S-a realizat prin punerea în contact în eter sulfuric (deshidratat cu Na_2SO_4 anhidru) a unor cantități echimoleculare de HIN și de anhidridă acetică. În decurs de cîteva ore de la efectuarea reacției, derivatul acetilat sedimentează și cristalizează pe fundul vasului de reacție. După mai multe spălări cu eter sulfuric anhidru (pentru eliminarea resturilor de acid acetic) substanța cristalizată este uscată în vid. Cristalele uscate, de culoare albă, sînt ușor solubile în apă.

Prepararea izonicotinoil-hidrazonelor acizilor α-cetonici. S-au pus în contact volume egale de soluții apoase 5 M de HIN și de acid α-cetonic (acid piruvic și acid α-cetoglutaric), la care s-a adăugat 10% acid acetic glacial. Imediat după realizarea amestecului se formează un precipitat abundent de izonicotinoil-hidrazonă. După sedimentare, precipitatul este reluat prin centrifugare, spălat din abundență cu amestec eter-etanol (1 : 3) și apoi uscat în vid. Izonicotinoil-hidrazona acidului piruvic astfel obținută se prezintă ca o pulbere de culoare galben-roză, fin granulară. Izonicotinoil-hidrazona acidului α-cetoglutaric, de asemenea fin granulară, are o culoare citrină. Ambele izonicotinoil-hidrazone sînt ușor solubile în apă distilată.

REACȚIILE VANADATULUI CU DERIVAȚII METABOLICI AI HIDRAZIDEI

În timp ce cu HIN liberă reactivul pe bază de vanadat dă reacții pozitive chiar la concentrații de 0,050—0,075 mg HIN/ml, în prezența derivaților metabolici ai chimioterapicului, acetil-hidrazida și izonicotinoil-hidrazonele acizilor α-cetonici, reacția nu devine pozitivă nici la concentrații de 1 000 de ori mai mari (50 mg/ml).

Dacă însă acetil-hidrazida sau izonicotinoil-hidrazonele acizilor α-cetonici se supun unei hidrolize la cald cu acid clorhidric și dacă produsele hidrolizei (care conțin HIN pusă în libertate) sînt aduse în contact cu reactivul pe bază de vanadat, se dezvoltă reacția de culoare specifică hidrazidei. Datele expuse pledează deci în mod concludent pentru admiterea specificității stricte a reactivului cu vanadat față de hidrazida liberă (activă tuberculicid).

SUBSTRATUL CHIMIC AL REACȚIEI DINTRE VANADAT ȘI HIDRAZIDĂ

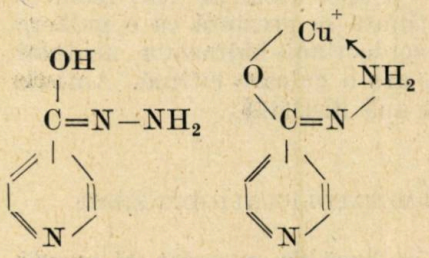
Existența unor compuși complecși de tipul polivanadaților, similari cu poliwolframații și polimolibdații, ridică problema posibilității realizării unor reactivi similari pentru decelarea HIN, preparați în condiții identice, însă pornind de la săruri de wolfram sau de molibden. Încercarea unor asemenea reactivi *) față de HIN duce însă la formarea unor preci-

*) Concentrația acestor reactivi a fost de 1—5 %, deoarece soluțiile 1‰ nu dau nici o reacție evidentă.

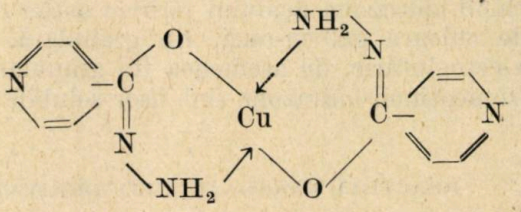
pitate (foarte abundente în cazul reactivului pe bază de wolframat). Pe de altă parte, îndepărtarea precipitatului și testarea lichidului clar, incolor, cu ajutorul reactivului pentru HIN pe bază de vanadat dă reacție pozitivă. Aceasta înseamnă că precipitatele formate de reactivii pe bază de wolframat sau molibdat, în prezența HIN, nu antrenează acest chimioterapic (el rămînînd prezent în supernatant).

Dacă proprietățile chimice ale vanadiului, atît cît ne sînt cunoscute nouă, nu sugerează o posibilitate de interpretare a testului de culoare realizat de ionul vanadic în prezența HIN, aceasta din urmă însă, datorită lanțului lateral care conține gruparea hidrazidică, poate sugera unele lămuriri în acest sens.

Astfel, este bine stabilit astăzi [1] că, în prezența ionilor de cupru sau a celor de fier, HIN poate da complecși chelatici (cu inele fără tensiune) de tipul (II) sau (III)



(I) (II)



(III)

În asemenea complecși metalul este legat covalent cu atomul de oxigen hidroxilic al formei enolice tautomere (I) și coordinativ cu atomul de azot al grupării NH_2 terminale.

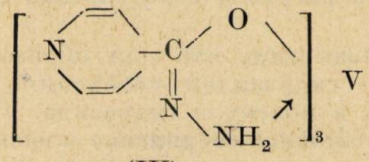
Pentru realizarea legăturii coordinative, acest atom terminal de azot trebuie să aibă o pereche de electroni neparticipanți, liberi, pe care să-i cedeze unilateral metalului chelaționabil. Concomitent, trebuie să existe condițiile necesare închiderii inelului către metalul chelaționat (planul inelului format fiind acela al dublei legături C = N).

Aceste condiții (o pereche de electroni neparticipanți și posibilitatea devierii spațiale în vederea închiderii inelului) sînt realizate atunci cînd lanțul lateral al moleculei se termină cu gruparea NH_2 liberă.

Dacă însă în această grupare se fac substituiri ale unui atom de H (cazul acetil-HIN) sau ale ambilor atomi de H (cazul izonicotinoil-hidrazonelor), cedarea perechii de electroni neparticipanți ai atomului de azot nu mai este posibilă, deoarece radicalii substituiți (acetil, piruvat etc.) nu permit închiderea inelului *către* metalul chelaționabil și *în planul* dublei legături C = N.

Fenomene care se pot încadra în considerațiile enunțate au loc în cazul reacției dintre ionul vanadic și hidrazidă: atît timp cît gruparea terminală NH_2 este liberă, reacția de culoare se dezvoltă; dacă hidrogenii (unul sau ambii) acestei grupări terminale se substituie, reacția cu vanadat nu se mai produce.

Este posibil deci să admitem că structura chimică a complexului vanadat-hidrazidă este de tip chelatic (IV)



(IV)

În formula posibilă a acestui complex (IV), trebuie admis că trei molecule de hidrazidă chelaționează un atom de vanadiu, deoarece — titrînd intensitatea culorii formate prin adăugarea de reactivi cu vanadiu la o soluție decimolară de HIN — se constată că maximul de culoare se obține atunci cînd la 1 ml soluție M/10 de HIN se adaugă 2,3—2,4 ml reactiv, adică echivalentul a M/3 × 10 ioni de vanadiu. Deci, fiecare ion de vanadiu reacționează cu trei molecule de HIN.

CONCLUZII

În stare liberă (activă tuberculicid), hidrazida acidului izonicotinic dezvoltă o reacție de culoare caracteristică și specifică, în prezența ionului vanadic, în mediu puternic acid. Derivații metabolici, inactivi tuberculicid, ai hidrazidei (derivatul acetilat și izonicotinoil-hidrazonele) nu dezvoltă o astfel de reacție de culoare în contact cu vanadatul decît după o prealabilă hidroliză acidă la cald, proces care decuplează hidrazida liberă.

Aceste reacții demonstrează că pentru formarea complexului vanadiu-hidrazidă este necesar să fie liberă gruparea terminală NH_2 a moleculei de hidrazidă. Este astfel de presupus că structura chimică a complexului vanadiu-hidrazidă este de tip chelatic, azotul din gruparea NH_2 realizînd legătura de tip coordinativ, chelaționantă.

Laboratorul de biochimie și fiziologie bacteriană al Institutului de fiziologie, București

Prezentată la redacție la 1 iulie 1960

ВЫЯВЛЕНИЕ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ПРОИЗВОДНЫХ ГИДРАЗИДА ИЗОНИКОТИНОВОЙ КИСЛОТЫ

РЕЗЮМЕ

В свободном виде гидразид изоникотиновой кислоты (активный туберкулицид) дает в присутствии ванадатного иона, в сильно кислой среде, характерное и специфическое окрашивание. Метаболические производные гидразида (неактивные туберкулициды), ацетил-гидразид

и изоникотиноил-гидразоны α-кетоновых кислот, дают подобную реакцию окрашивания с ванадатным ионом лишь после предварительного кислого гидролиза (при нагреве), в результате которого выделяется свободный гидразид.

Эти реакции показывают, что для образования комплексного соединения ванадия с гидразидом необходимо наличие свободной концевой группы NH_2 в молекуле гидразида. Таким образом, надо предполагать, что это сложное соединение клешневидного типа (N из группы NH_2 образует связь координативного типа).

IDENTIFICATION DES DÉRIVÉS MÉTABOLIQUES DE L'HYDRAZIDE DE L'ACIDE ISONICOTINIQUE

RÉSUMÉ

L'hydrazide de l'acide isonicotinique à l'état libre (active au point de vue tuberculicide) réagit, en présence de l'ion vanadique et en milieu fortement acide, par une réaction de couleur, caractéristique et spécifique. Les dérivés métaboliques de l'hydrazide (inactifs au point de vue tuberculicide), tels les acétyl-hydrazides et isonicotinoïl-hydrazones des acides α-cétoniques, ne donnent de telles réactions de couleur avec le vanadate qu'après une hydrolyse acide à chaud, préalable, processus qui détermine la mise en liberté de l'hydrazide.

Ces réactions démontrent que, pour la formation du complexe vanadium-hydrazide, il faut que le groupement terminal NH_2 de la molécule d'hydrazide soit libre. On doit donc supposer que le complexe vanadium-hydrazide est du type chélatique (N, du groupement NH_2, réalisant une liaison du type coordinatif).

BIBLIOGRAFIE

1. ALBERT J., Experientia, **9**, 370 (1953).
2. BELL J. C., RIEMENSNIDER D. K., Amer. rev. tuberc., **75**, 992, 995 (1957).
3. NASTA M., PĂUNESCU EUG., Probleme de terapeutică, **VIII**, 49 (1958).
4. PĂUNESCU EUG., BUZESCU M., Ftiziologia, *6*, 547 (1960).
5. — Studii şi cercetări de med. int., **I**, *6*, 79 (1960).

CONTRIBUȚII LA DOZAREA DERIVAȚILOR PURINICI AI ACIZILOR NUCLEICI

DE

LIVIU POPA

Proprietatea purinelor și derivaților lor de a absorbi intens lumina ultravioletă stă la baza majorității metodelor de identificare și dozare a acestor grupe de substanțe. E. Vischer și E. Chargaff [14], [15], R. D. Hotchkiss [6] sînt primii care determină purinele și pirimidinele acizilor nucleici — după eluția acestora de pe cromatograma pe hîrtie — în spectrul ultraviolet. A. Marshak și N. I. Vogel [10], în condiții speciale de emisie și filtrare a luminii ultraviolete, ajung să determine pînă la 0,2 γ adenină. R. Markham și J. D. Smith [7], [8], T. N. Evreinova și colaboratori [4], [5] folosesc metoda fotografierii în ultraviolet pentru identificare și metoda spectrofotometrică pentru dozări.

J. D. Smith și R. Markham [13] arată că guanina și derivații ei devin fluorescenți dacă cromatograma este tratată cu vapori de HCl. Fluorescența purinelor poate fi obținută și prin oxidarea lor cu apă de clor (H. Michl [11]).

Tot E. Vischer și E. Chargaff [14], [15] sînt primii care folosesc metode chimice de punere în evidență, cromatografic, a purinelor și pirimidinelor acizilor nucleici. Ei tratează cromatograma cu acetat sau azotat de mercur, iar complecșii formați între sărurile de mercur și purine și pirimidine sînt puse în evidență cu ajutorul sulfitului de amoniu. R. M. Reguera și I. Asimov [12] folosesc în același scop sărurile de argint.

Eozina și albastrul de bromfenol, în concentrație de 0,2% în soluții alcoolice saturate cu sublimat, sînt recomandate de H. Michl [11] pentru determinarea purinelor. Albastrul de bromfenol 0,4%, în soluție acetonică căreia i s-a adăugat azotat de argint, este propus de T. Wood [17] pentru identificarea adeninei, guaninei, xantinei și a acidului adenilic, în prezența unor săruri anorganice.

O metodă chimică de dozare a adeninei este cea a lui D. L. Woodhouse [16], bazată pe reacția de culoare a clorhidratului de N-1-naftiletilendiamină cu adenina diazotată. Pentru dozarea nucleozidelor acizilor nucleici, J. D. Buchanan, C. A. Dekker și A. G. Long [2] adaptează la condițiile cromatografiei pe hîrtie reacțiile specifice pentru riboză și desoxiriboză — Schiff, Diche.

Lucrarea de față își propune ca scop prezentarea unei metode de determinare cantitativă a derivaților purinici ai acizilor nucleici după separarea lor cromatografică sau electroforetică pe hîrtie. La baza acestei metode stă reacția de culoare a derivaților purinici cu albastrul de bromfenol semnalată de Michl [11] și apoi de Wood [17]. În vederea sensibilizării și stabilizării acestei reacții, s-au adus reactivului unele modificări.

MATERIALUL ȘI METODA DE LUCRU

S-a lucrat cu următoarele substanțe pure : guanină*), adenină, adenozină, guanozină și acid adenilic. Soluțiile acestora se fac în acid percloric 0,14 n, cu pH-ul cuprins între 1 și 2. Optimul de concentrație pentru analiză este de 10 γ pentru adenină și guanină (3—100 γ), de 15 γ pentru adenozină și guanozină (6—100 γ) și de 20 γ pentru acidul adenilic (10—100 γ).

Pentru cromatografie, am folosit două amestecuri de irigare :

1. *n*-Butanol saturat cu apă, pentru care Vischer și Chargaff [14] dau următoarele R_f-uri : R_f adenină = 0,28 ; R_f guanină = 0,074.

2. Amestecul de solvenți propus de Markham și Smith [9] : butanol 77%, apă 13% și acid formic 10% ; pentru adenină R_f = 0,33 și pentru guanină R_f = 0,13.

Sistemul de irigare a fost cel descendent, monodimensional. Oricare din cele două amestecuri de solvenți poate fi întrebuințat cu aceleași rezultate.

Hîrtia de filtru întrebuințată — Whatman nr. 1, cu dimensiunile de 20 cm lățime și 30 cm lungime. Pentru determinări calitative se poate folosi cu foarte bune rezultate și hîrtia obișnuită. La 8 cm de la unul din capete se trasează linia de start. Pe această linie se așază cu o micropipetă cantități de soluție cuprinzînd între 3 și 100 γ baze purinice și 6—100 γ nucleozide purinice. În cazul cînd se lucrează cu amestecul format din adenină și guanină pură, separarea lor cromatografică este suficientă după 4 ore de irigare (fig. 1). Același lucru este valabil și pentru amestecurile formate din adenozină și guanozină pură sau acid adenilic și acid guanilic pur.

Dacă se face analiza guaninei și adeninei sau a nucleozidelor sau a mononucleotidelor acestora, obținute în urma hidrolizei acizilor nucleici, timpul de irigare trebuie să fie de cel puțin 10 ore (fig. 2*a*) pentru ca interferarea celorlalte componente, deși nu dau această reacție, să nu aibă loc.

*) Întrucît guanina este greu solubilă, a fost dizolvată întîi în acid percloric concentrat, adăugîndu-se apoi apă, pînă la obținerea unei soluții 0,14 n de acid percloric.

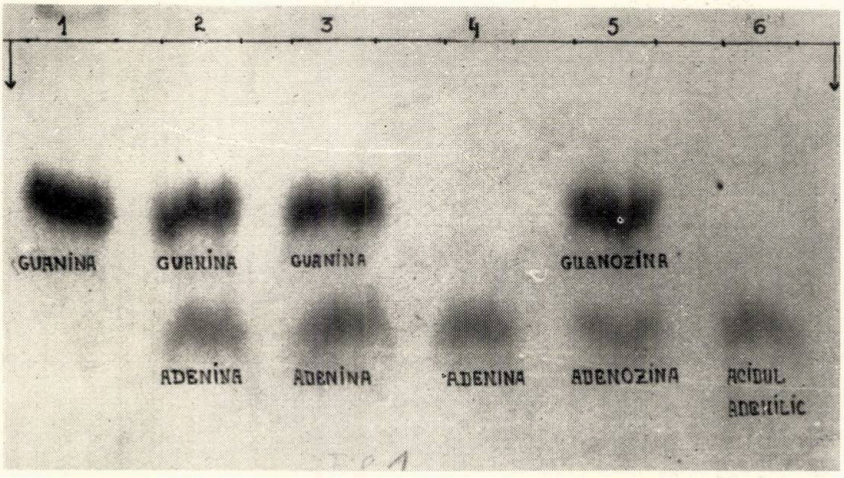
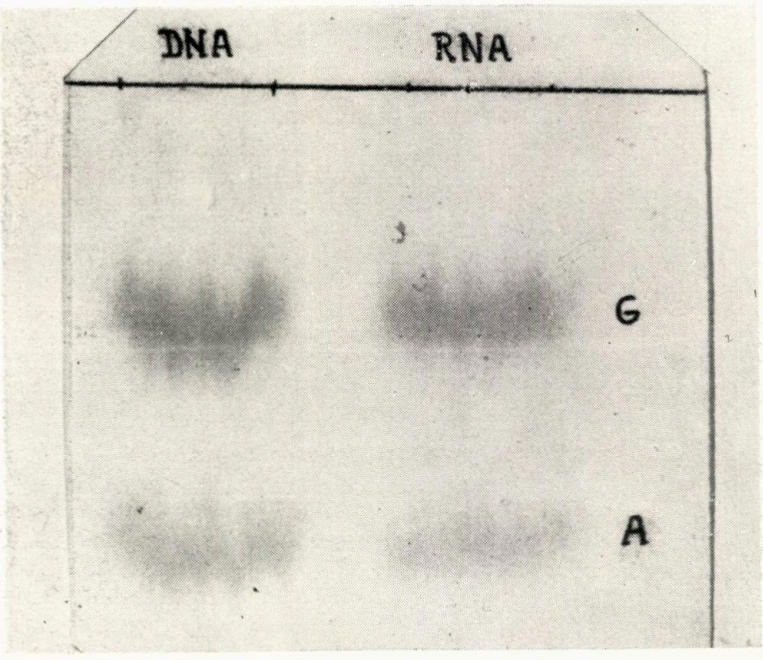
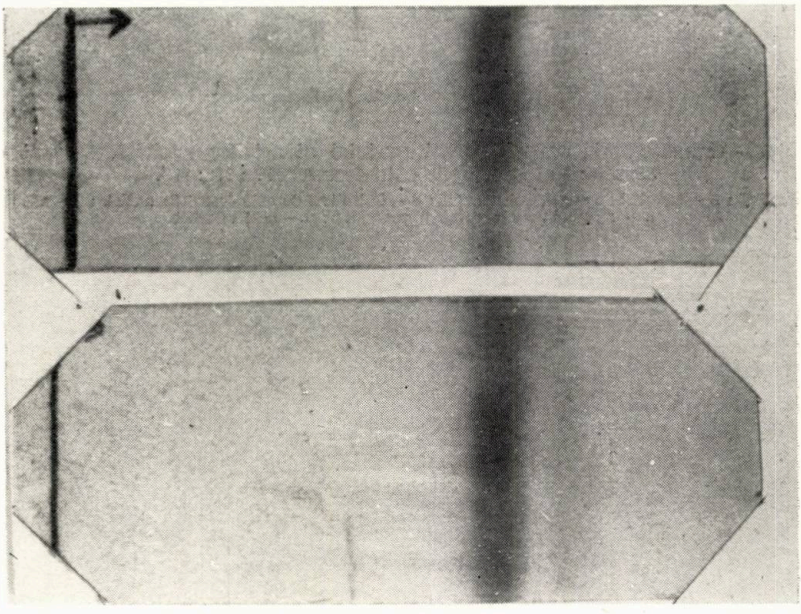


Fig. 1. — Cromatografia unor derivaţi purinici ai acizilor nucleici. Solvent de irigare : butanol, apă, acid formic (77 : 13 : 10).

1 — Guanină ; *2* — amestec de adenină şi guanină ; *3* — hidrolizat de acid desoxiribonucleic ; *4* — adenină ; *5* — amestec de adenozină şi guanozină ; *6* — acid adenilic.



a



b

Fig. 2. — Cromatografia (*a*) și electroforeza (*b*) hidrolizatului de DNA și RNA. Hidrolizatului supus electroforezei i s-a adăugat 15 γ guanină.

După irigare se scoate hîrtia de filtru, se usucă la temperatura camerei și apoi timp de 15 min în etuvă la 70°C. Hîrtia astfel uscată este trecută în baia de colorare formată din albastru de bromfenol 0,5% în alcool saturat cu sublimat. La 100 ml din această soluție se adaugă 10 ml acid azotic 0,5 n. Colorarea are loc într-un timp foarte scurt (15 s). Excesul de colorant se spală într-un curent de apă, pînă cînd fondul rămîne alb.

Spoturile intens colorate în albastru arată pozițiile ocupate de bazele, nucleozidele sau mononucleotidele purinice. Spoturile developate sînt conturate cu un creion și apoi tăiate în bucățele mici și introduse într-o eprubetă. Eluția se face cu 2 ml hidroxid de sodiu 0,1 n. Colorimetrarea s-a făcut la un colorimetru universal model UK VII, folosind cuvele de 1 ml, filtru orange OG 2 la 540 mμ și făcînd citirea la 10 min după adăugarea hidroxidului de sodiu.

Eluția este cantitativă, iar colorația intensă obținută este ușor colorimetrabilă.

Am aplicat această metodă pentru dozarea adeninei și guaninei din acidul ribonucleic (RNA) și acidul desoxiribonucleic (DNA). În acest scop, am procedat în felul următor: hidroliza s-a făcut prin cunoscuta metodă cu acid percloric, folosită și de Marschak [10], Evreinova și coloboratori [5] și alții: 10 mg acid nucleic se tratează cu 0,2 ml $HClO_4$ 70% într-o fiolă (care se închide), la 100°C, timp de o oră. Hidrolizatul obținut se filtrează, se spală cantitativ, iar filtratul și apele de spălare se reunesc într-o capsulă de porțelan, se supun evaporării pe baia de apă pînă la un volum de aproximativ 0,1 — 0,2 ml. Se reia cantitativ din capsulă, în același timp se potrivește pH-ul între 1 și 2. Aducînd volumul la 2 ml vom avea astfel 100 γ acid nucleic hidrolizat în 0,02 ml. Pentru cromatografiat se pipetează pe hîrtia de filtru 0,02 ml (sau mai puțin) și se fac operațiile descrise mai sus.

Pe aceeași hîrtie de filtru se depun și soluțiile martor. Dacă se lucrează cu 0,02 ml hidrolizat de acid nucleic, se vor pune cantități de guanină și adenină în jur de 10 γ. Martorii se pot pune fie separat, fie împreună (adenină + guanină).

Separări electroforetice. O bună separare a adeninei de guanină, respectiv a adenozinei de guanozină, am obținut-o la pH egal cu 5,6, tampon acetat 0,1 n cu forța ionică de 0,1 μ, într-un timp de 3 ore, lucrînd cu 500 V și 4,3 mA/bandă, lungimea benzii fiind de 30 cm și lățimea de 4 cm (fig. 2 *b*).

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Folosind metoda arătată mai sus, am reușit să dozăm cantități de 3—100 γ baze purinice, 6—100 γ nucleozide și 10—100 γ mononucleotide purinice. Sensibilitatea reacției de culoare este de 1 γ adenină, 1 γ guanină după H. Michl [11]. Ne-am oprit la limita inferioară de 3 γ pentru purine*), 6 γ pentru nucleozide și 10 γ pentru mononucleotide, pentru a

*) În condițiile de colorare din prezenta lucrare, sensibilitatea ajunge chiar la 0,5 γ adenină și guanină.

avea condiții optime de colorimetrare. Specificăm că se poate lucra și sub aceste limite, mărind sensibilitatea fotocolorimetrului.

Între limitele de concentrație arătate este valabilă legea Lambert-Beer, după cum se poate vedea din figura 3, în care este reprezentată variația procentului de absorbție în funcție de concentrație pentru cazul guaninei. Curbe în totul asemănătoare s-au obținut și pentru adenină, adenozină, guanozină și acidul adenilic.

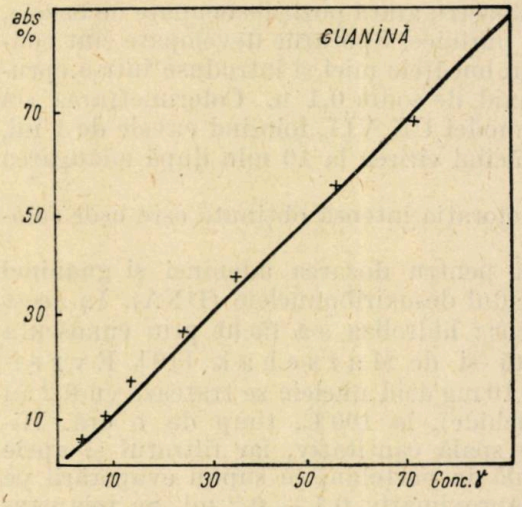


Fig. 3. — Variația procentului de absorbție în funcție de concentrație pentru cazul guaninei.

Pentru a avea rezultate perfect reproductibile și condiții optime de colorimetrare, este necesar să se respecte următoarele recomandări: *a*) pH-ul soluției standard și al hidrolizatului de acid nucleic să fie între limitele 1 — 2. Nerespectarea acestor limite în special aciditatea mărită duce la imposibilitatea separării cromatografice și electroforetice a componentelor. Influența pH-ului se resimte și asupra intensității reacției de culoare cu albastru de bromfenol. Aciditatea mărită determină slăbirea intensității colorării cu albastru de bromfenol; adenina și derivații ei sînt mai sensibili. Recenta lucrare a lui I. B a r s k i i [1] arată influența deosebită pe care o are pH-ul asupra fluorescenței guaninei pe hîrtia de filtru și în soluție, ceea ce este o dovadă în ceea ce privește acțiunea pH-ului asupra unor proprietăți fizice ale acestor substanțe.

Adăugarea acidului azotic 0,5 n la soluția de albastru de bromfenol este necesară pentru a intensifica reacția de culoare a adeninei și a derivaților ei.

Concentrația albastrului de bromfenol am mărit-o la 0,5%, față de 0,2% cît recomandă ceilalți autori, cu scopul de a obține prin eluția spoturilor o soluție care se colorimetrează mai ușor.

În urma repetatelor analize comparative făcute cromatografic și electroforetic, am ajuns la concluzia că pentru separarea acestor substanțe este de preferat cromatografia.

Mulțumesc pe această cale, tov. dr. E u g e n i a S o r u, membru corespondent al Academiei R.P.R., pentru ajutorul prețios pe care mi l-a dat la realizarea acestei lucrări.

Centrul de cercetări biologice al Academiei R.P.R.

Prezentată la redacție la 25 mai 1960

К ВОПРОСУ О КОЛИЧЕСТВЕННОМ ОПРЕДЕЛЕНИИ ПРОИЗВОДНЫХ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

РЕЗЮМЕ

В работе описан количественный метод определения аденина, гуанина, аденозина, гуанозина, адениловой и гуаниловой кислот, основанных на цветной реакции этих компонентов (после их хроматографического или электрофоретического разделения (с бромфеноловым синим) 0,5%-ный спиртовой раствор, насыщенный сулемой; на 100 мл этого раствора добавляют 10 мл азотной кислоты 0,5 н.).

Образованное пуриновыми производными с реактивом окрашенное комплексное соединение элюируют и колориметрируют.

Метод применим для следующих концентраций: 3—100 γ аденина и гуанина, 6—100 γ аденозина и 10—100 γ адениловой и гуаниловой кислот из биологических продуктов. Авторы применяли этот метод для определения пуриновых производных нуклеиновых кислот.

При необходимости воспроизведения результатов исследования pH стандартных и анализируемых растворов, полученных в результате гидролиза, должен находиться постоянно в пределах от 1 до 2.

ОБЪЯСНЕНИЕ РИСУНКОВ

Рис. 1. — Хроматография некоторых пуриновых производных нуклеиновых кислот. Элюант: бутиловый спирт, вода, муравьиная кислота (77 : 13 : 10).

1 — гуанин; *2* — смесь аденина и гуанина; *3* — гидролизат дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК); *4* — аденин; *5* — смесь аденозина и гуанозина; *6* — адениловая кислота.

Рис. 2. — Хроматография (*а*) и электрофорез (*в*) гидролизата ДНК и РНК. К подвергавшемуся электрофорезу гидролизату добавляли 15 γ гуанина.

Рис. 3. — Изменение абсорбции (в процентах), в зависимости от концентрации в случае гуанина.

CONTRIBUTION AUX MÉTHODES DE DOSAGE DES DÉRIVÉS PURIQUES DES ACIDES NUCLÉIQUES

RÉSUMÉ

On décrit une méthode quantitative de dosage des adénine, guanine, adénosine, guanosine et des acides adénylique et guanylique. Cette méthode est basée sur la réaction de couleur de ces substances — après leur séparation par chromatographie ou électrophorèse — au bleu de

bromphénol (en solution alcoolique à 0,5% saturée de sublimé, additionnée de 10 ml d'acide azotique, 0,5 n, pour 100 ml).

Le complexe coloré, qui prend naissance par l'action du réactif sur les dérivés puriques, est élué et évalué par voie colorimétrique.

La méthode est applicable pour des concentrations de 3 à 100 μg d'adénine et de guanine, de 6 à 100 μg d'adénosine et de 10 à 100 μg d'acide adénylique et acide guanylique dans les produits biologiques. L'auteur l'a apliquée au dosage des dérivés puriques des acides nucléiques.

Pour que les résultats soient toujours reproductibles, le pH des solutions standard et celui des solutions à analyser, résultant de l'hydrolyse, doit être compris entre 1 et 2.

EXPLICATION DES FIGURES

Fig. 1. — Chromatographie de certains dérivés puriques des acides nucléiques. Solvant d'irrigation : butanol, eau, acide formique (77 : 13 : 10). *1* — guanine ; *2* — mélange d'adénine et guanine ; *3* — hydrolysat d'acide désoxyribonucléique ; *4* — adénine ; *5* — mélange d'adénosine et guanosine ; *6* — acide adénylique.

Fig. 2. — Chromatographie (*a*) et électrophorèse (*b*) de l'hydrolysat de DNA et RNA. A l'hydrolysat soumis à l'électrophorèse, on a ajouté 15 μg de guanine.

Fig. 3. — Variations du taux d'absorption, en fonction de la concentration, pour la guanine.

BIBLIOGRAFIE

1. Барский И., Биохимия, **24**, 823 (1959).
2. Buchanan J. D., Dekker C. A., Long A. G., J. Chem. Soc., 3162 (1950).
3. Buchanan J. G., Nature, **168**, 1031 (1951).
4. Еврейнова Т. Н., Ермолаева Л. П., Герасимова А. М., ДАН СССР, **118**, 334 (1958).
5. Еврейнова Т. Н., Вунина Н. Н., Кузнецова Н. В., Биохимия, **24**, 912 (1959).
6. Hotchkiss R. D., J. Biol. Chem., **175**, 315 (1948).
7. Markham R., Smith J. D., Nature, **163**, 250 (1949).
8. — Biochem. J., **45**, 294 (1949).
9. — Biochem. J., **52**, 552, 558, 565 (1952).
10. Marschak A., Vogel N. I., J. Biol. Chem., **189**, 597 (1951).
11. Michl H., Naturwiss., **40**, 390 (1953).
12. Reguera R. M., Asimov I., J. Amer. Chem. Soc., **72**, 5781 (1950).
13. Smith J. D., Markham R., Biochem. J., **46**, 509 (1950).
14. Vischer E., Chargaff E., J. Biol. Chem., **168**, 781 (1947).
15. — J. Biol. Chem., **176**, 703 (1948).
16. Woodhouse D. L., Arch. Biochem., **25**, 347 (1950).
17. Wood T., Nature, **176**, 175 (1955).

MODIFICĂRILE BIOCHIMICE ÎN BOALA ASTMATICĂ ÎN URMA BALNEO-FIZIOTERAPIEI GOVORA

DE

V. GEICULESCU, S. CĂPÎLNĂ, I. PINCIU, A. DINCĂ, T. LAZĂR şi C. GEICULESCU

În ultimul deceniu se tinde din ce în ce mai mult a se atribui bolii astmatice o explicaţie umorală. Astfel, A. Mingot [13] consideră astmul bronşiolar ca fiind rezultatul unei stări de sensibilitate de origine colo-hepato-digestivă, în care plămînul ca releu suferă agresiunea producînd histamină, iar factorul psihic intervine ca amplificator. B. Santenoise [15] susţine că astmul bronşiolar se datoreşte scăderii puterii colinesterazice a sîngelui, fapt care antrenează micşorarea vitezei de distrugere a acetilcolinei, mediatorul chimic al excitaţiei nervoase parasimpatice, şi dă astfel amplitudine particulară bronhospasmului şi diverselor modificări hiperergice, parasimpatice, periferice.

R. Benda şi D. A. Urquia [2] tind să atribuie astmului bronşiolar o patogenie umorală specială, cu un substrat sero-plasmatic. Aceşti autori au constatat că în timp ce serul indivizilor normali posedă proprietatea de a împiedica apariţia şocului histaminic la cobaiul sensibilizat, serul astmaticului e lipsit de această proprietate. Serul astmatic nu conţine, deci, un factor antihistaminic-antiastmatic, care se găseşte la toţi indivizii normali. Boala astmatică ar ţine, deci, de un defect plasmatic al indivizilor bolnavi constînd în instabilitatea cuplului histamină-globuline.

Alţi autori sînt de părere că în alergiile respiratorii se produce la nivelul membranelor celulare o localizare de anticorpi, ceea ce determină modificarea permeabilităţii celulare şi eliberarea din celulă a unor substanţe farmacodinamic active : histamină, acetilcolină, heparină. Aceste substanţe libere influenţează apoi tonusul nervos vegetativ, în sensul unei distonii vegetative (R. Schupli [16]).

Faptul că la unii astmatici se referează o bronhoconstricţie prin inhalaţie de aerosoli de 5 hidroxi-triptamină se pare că prezintă o importanţă în cazurile de astm bronşiolar spontan la om (V. Erspamer [6]).

Se admite de asemenea că în astmul bronşiolar există o proporţionalitate între evoluţia bolii şi eosinofilia sangvină (D. Frietel [8]).

Granulocitele eosinofile au un raport direct cu reacţiile imunobiologice, deoarece cresc în procesele alergice şi scad sau dispar după cortizonă şi ACTH, fapt care face să se creadă că eosinofilele ar fi transportoare de anticorpi. După distrugerea eosinofilelor, proteinele celulare ar juca un rol în histaminopexie (W. Bargmann [1]).

Eosinofilele granulocitare, oxidazele şi peroxidazele scad în astmul bronşiolar, ceea ce denotă o alterare a proceselor metabolice celulare (T. Dinculescu şi colaboratori [5]).

Pentru a ne da seama de modificările umorale care se produc în boala astmatică şi a vedea care din formele clinice reacţionează favorabil la tratamentul balnear Govora, s-au cercetat prin metoda electroforezei pe hîrtie de filtru diferitele fracţiuni proteice înainte şi la sfîrşitul balneofizioterapiei. Trebuie spus de la început că cercetările electroforetice în boala astmatică sînt relativ puţine la număr [11]. Unii autori neagă chiar existenţa unei disproteinemii (L. Sunyan [17]), iar alţii, studiind un număr mare de cazuri (J. Garta [9], G. Holler [10]), găsesc în astm disproteinemii constante, caracterizate prin creşterea γ-globulinelor şi V.S.H.-ului.

Am urmărit variaţiile proteinelor serice pe un număr de 37 cazuri de astmatici (19 bărbaţi şi 18 femei, avînd vîrsta între 19—56 ani) cu diferite forme clinice, înainte şi după balneo-fizioterapie.

Rezultatele obţinute sînt trecute în tabela 1.

Tabela 1

Valoarea fracţiunilor proteinelor serice în boala astmatică, înainte şi după tratamentul balnear Govora (% din numărul cazurilor studiate)

Fracţiunea proteică	Valori normale	Valori scăzute	Valori crescute
	înainte de tratament		
Albumine	10,50	89,50	—
α_1-Globuline	56,25	—	43,75
α_2-Globuline	25,00	6,25	58,75
β-Globuline	18,75	18,75	62,50
γ-Globuline	12,50	12,50	75,00
Paraproteine	—	—	—
	după tratament		
Albumine	32,50	35,00	32,50
α_1-Globuline	37,50	18,75	43,75
α_2-Globuline	31,25	18,75	50,00
β-Globuline	31,25	50,00	18,75
γ-Globuline	31,25	43,75	25,00
Paraproteine	44%		

Din cercetările noastre rezultă că, înainte de tratament, în 99% din cazurile studiate există disproteinemii evidente, caracterizate prin

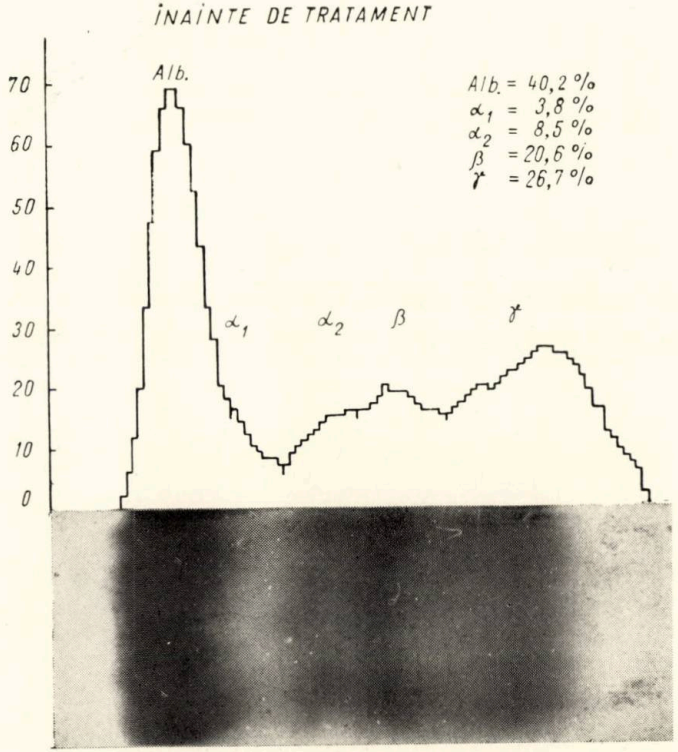


Fig. 1. — Electroforegrama serului sangvin înainte de tratamentul balnear Govora.

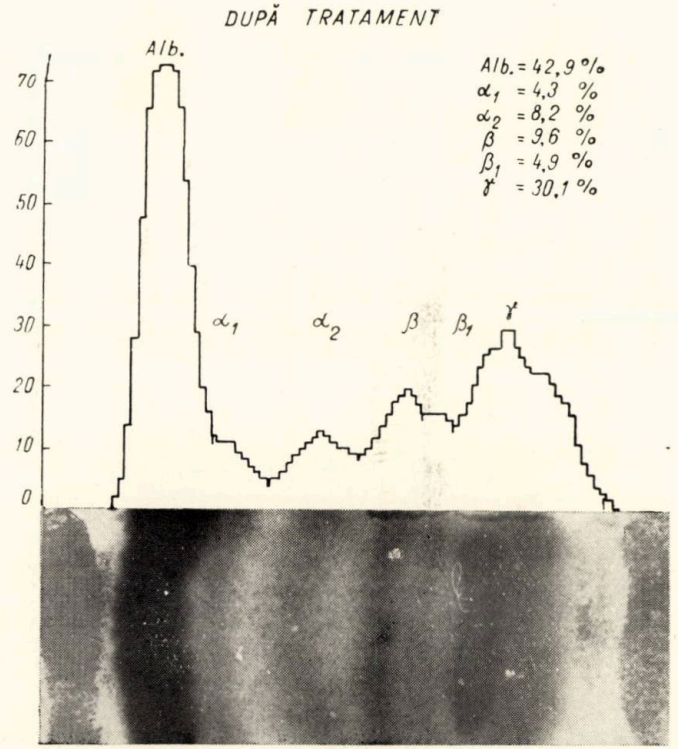


Fig. 2. — Electroforegrama serului sangvin după tratamentul balnear Govora.

creşterea tuturor fracţiunilor globulinice şi scăderea corespunzătoare a albuminelor.

În urma balneo-fizioterapiei (băi de iod, sulf, pneumoterapie, aer comprimat sau rarefiat — aerosoli — inhalaţii sau pulverizaţii cu iod sau sulf — r.u.v., r.u.s., diatermie, ionizări cu $CaCl_2$, cultură fizică medicală, cură de teren) aplicate pe forme clinice (în forma cataralâ, umedă bronhopulmonară şi alergică uscată s-a ales sulful pentru acţiunea sa complexă: antiseptică, anticatarală şi antianafilactică, iar în formele indicate ca scleroemfizem s-a preferat iodul, ca antisclerozant) şi bine individualizate, se constată tendinţa de revenire la normal a spectrului proteic sangvin, aceasta rămînînd totuşi cu un aspect particular, caracterizat prin creşterea α_1- şi α_2-globulinelor şi scăderea β- şi γ-globulinelor. De asemenea se constată apariţia de paraproteine, situate între fracţiunile β şi γ, în 44% din cazurile studiate, aşa cum se vede în figurile 1 şi 2. Acest fapt ni se pare interesant de semnalat, deşi în faza actuală nu putem da o explicaţie a semnificaţiei fiziopatologice a acestor paraproteine.

Datele electroforezei proteinelor serice în astmul bronşiolar sînt încă prea puţine ca să permită o apreciere critică a rezultatelor înregistrate în această boală. Ele necesită încă verificări şi mai ales determinarea electroforetică a variaţiilor proteinelor serice la astmatici, în cursul evoluţiei bolii.

Paralel cu aceste determinări s-au făcut şi alte probe de laborator, constatîndu-se următoarele: V.S.H. accelerată; tabloul sangvin: hipereosinofilie; glucidograma: α_2-globulinele crescute; pH *in vivo*: tendinţă spre alcalinizare; rezistenţă capilară scăzută.

Înainte şi după tratament, pH-ul sîngelui *in vivo* şi al urinei proaspăt emise s-au determinat cu ajutorul electrodei de stibiu [4].

Rezultatele obţinute sînt date în tabela 2.

Tabela 2

Valoarea pH-ului sangvin şi al urinei, determinat cu electroda de stibiu (% din numărul cazurilor studiate)

Umoarea studiată	Înainte de tratament			După tratament		
	normal	acid	alcalin	normal	acid	alcalin
Sînge	—	16,66	83,33	33,33	—	66,66
Urină	83,33	16,66	—	66,66	33,33	—

Rezultatele clinice obţinute în urma balneo-fizioterapiei sînt următoarele: 68% din cazuri au fost ameliorate, 29% parţial ameliorate, iar 3% n-au reacţionat la terapia instituită, pînă la părăsirea staţiunii.

Comparînd datele clinice cu rezultatele electroforetice, se constată că cel mai bine s-au comportat bolnavii cu forme intricate cu scleroemfizem şi formele alergice, după care urmează formele bronhopulmonare catarale şi cele adezive.

În concluzie se poate spune că, în complexul general al măsurilor curative în boala astmatică, un rol important revine balneo-fizioterapiei.

Despre mecanismul intim prin care balneo-fizioterapia influenţează modificările umorale în boala astmatică, deocamdată nu se poate spune ceva precis. Este însă probabil că balneoterapia (cel puţin băile sulfuroase) stimulează cortico-suprarenalele. În literatură se semnalează o puternică potenţare a acţiunii ACTH şi cortizonei, în urma balneoterapiei, în tratamentul poliartritei reumatice (K. F e l l i n g e r [7]). Se ştie că ACTH-ul şi corticoterapia au o acţiune deosebit de favorabilă şi în tratamentul astmului (O. B i n ş t o c [3]).

Urmează ca în viitor să se facă investigaţii mai fine, cum ar fi bunăoară dozarea aminoacizilor liberi în sînge şi urină şi a unor enzime, care ar furniza date mai precise asupra eficienţei curei balneare.

Staţiunea balneară Govora
şi Catedra de biochimie I.M.F., Cluj

Prezentată la redacţie la 15 iunie 1960

БИОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПРИ АСТМАТИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ В РЕЗУЛЬТАТЕ БАЛЬНЕОФИЗИОТЕРАПИИ В ГОВОРЕ

РЕЗЮМЕ

Многие авторы все более склонны считать, что бронхиальная астма обладает специфическим гуморальным патогенезисом на сывороточно-плазматической основе. Для выяснения биохимических изменений, происходящих при астматическом заболевании, авторы проследили за изменением сывороточных белков на 37 больных (19 мужчин и 18 женщин), представлявших различные клинические формы до и после бальнеофизиотерапии в Говоре.

Из проведенных исследований вытекает, что при астматическом заболевании наблюдается в подавляющем большинстве случаев (90%) явные диспротеинемии, характеризующиеся возрастанием всех глобулиновых фракций и соответствующим понижением альбуминов.

В результате бальнеофизиотерапии (иодистые, серные ванны, аэрозоли, ингаляции или пульверизации иодом или серой, пневмотерапии — сжатый или разряженный воздух, ультрафиолетовые и ультракороткие лучи, диатермия, ионизация двухлористым кальцием, медфизкультура), применявшейся индивидуально, наблюдается тенденция к нормализации белковой картины крови; в особых случаях все же остается характерное возрастание α_1- и α_2- глобулинов и понижение β- и γ-глобулинов. В большом количестве случаев (44%) констатируется также появления парапротеинов, расположенных между фракциями β и γ.

Одновременно с этими определениями, были приведены другие лабораторные испытания (Р.О.Е., картина крови, глуцидограмма, определение pH in vivo, капиллярное сопротивление).

В результате бальнеофизиотерапии были получены следующие данные: 68% случаев улучшения, 29% — частичные улучшения, а 3% больных не воспользовались прописанной терапией до отъезда с курорта.

ОБЪЯСНЕНИЕ РИСУНКОВ

Рис. 1. — Электрофореграмма кровяной сыворотки до бальнеотерапии в Говоре.
Рис. 2. — Электрофореграмма кровяной сыворотки после бальнеотерапии в Говоре.

LES MODIFICATIONS BIOCHIMIQUES DANS LA MALADIE ASTHMATIQUE, À LA SUITE DE LA BALNÉO-PHYSIOTHÉRAPIE À GOVORA

RÉSUMÉ

On tend de plus en plus à attribuer à l'asthme bronchiolique une pathogénie humorale spéciale, ayant un substratum séro-plasmatique. Afin d'établir quelles sont les modifications biochimiques qui ont lieu au cours de la maladie asthmatique, les auteurs ont suivi les variations des protéines sériques chez 37 sujets (19 hommes et 18 femmes), accusant différentes formes cliniques, avant et après l'application de la balnéo-physiothérapie à Govora.

Il résulte de ces recherches que, dans la maladie asthmatique, il y a des dysprotéinémies évidentes, en proportion élevée (90% des cas). Ces dysprotéinémies se caractérisent par l'augmentation de toutes les fractions globuliniques et par une baisse correspondante des albumines.

Par suite de la balnéo-physiothérapie (bains d'iode, bains sulfureux, aérosols, inhalations ou pulvérisations à l'iode ou au soufre, rayons ultra-violets, ondes ultra-courtes, diathermie, ionisations au Cl_2Ca, culture physique médicale, cure d'air), appliquée d'une façon individuelle, on constate une tendance à la normalisation du tableau protéique sanguin. Néanmoins un cachet particulier persiste, caractérisé par l'augmentation des globulines $alpha_1$ et $alpha_2$ et la baisse des globulines bêta et gamma. En même temps, on constate l'apparition des paraprotéines, situées entre les fractions bêta et gamma. Ces modifications sont enregistrées dans bon nombre de cas (44%).

Parallèlement à ces déterminations, les auteurs ont également procédé à d'autres épreuves de laboratoire (V.S.H., tableau sanguin, glucido-gramme, pH *in vivo*, résistance capillaire).

Les résultats de la balnéo-physiothérapie ont été les suivants : amélioration, dans 68% des cas ; amélioration partielle, chez 29% des malades ; une proportion réduite, de 3%, n'ont pas bénéficié de la thérapeutique instituée pendant leur séjour dans la station.

EXPLICATION DES FIGURES

Fig. 1. — Electrophorégramme du sérum sanguin avant l'institution du traitement balnéaire, à Govora.

Fig. 2. — Electrophorégramme du sérum sanguin après le traitement balnéaire, à Govora.

BIBLIOGRAFIE

1. BARGMANN W., Dtsch. Med. Wschr., **28**, 1109 (1956).
2. BENDA R., URQUIA D. A., *XXVI-e Congrès français de médecine*, 1948.
3. BINŞTOC O., Medicina internă, *7*, 1039 (1958).
4. CĂPÎLNĂ S., CĂPÎLNĂ A., Fiziologia, *2* (1960).
5. DINCULESCU T., BINŞTOC O., SLĂVESCU V., Sesiunea a IV-a I.M.F., Bucureşti, noiembrie 1958.
6. ERSPAMER V., Arzneimittelforschung, *9*, 571 (1958).
7. FELLINGER K., SMID J., Klin. Wschr. Wien, **66**, *11*, 183 (1954).
8. FRIETEL D., La Méd. Prat., **170**, 7 (1958).
9. GARTA J., Orvosi Hetilap, *12*, 365 (1933).
10. HOLLER G., Klin. Wschr. Wien, *35—36*, 672 (1955).
11. IDU S., CÂMPEANU S., *Electroforeza*, Ed. medicală, Bucureşti, 1957.
12. LYON E., Allergy and Asthm, *4*, 248 (1957).
13. MINGOT A., Thèse, Paris, 1947.
14. PĂUNESCU-PODEANU A., BĂLTĂCEANU O., DEUTSCH G., Timişoara medicală, *1—2*, 34 (1956).
15. SANTENOISE B., GRANDPIERRE R., Sem. des Hôp., **VI**, 14 (1951).
16. SCHUPLI R., *Dermatolog. Univ. Klinik Bürgerspital*, Basel, Schweiz., 1956.
17. SUNYAN L., Kisérletés Orvostudomány, *6*, 654 (1955).

CONTRIBUȚII LA STUDIUL ACȚIUNII OXIDO-REDUCĂTOARE A VITAMINELOR

NOTA VII. UNELE REACȚII DE OXIDO-REDUCERE A VITAMINELOR E ȘI K

DE

ALEX. BATCU

În lanțul de transportori de electroni necesari respirației tisulare, este bine cunoscută importanța vitaminelor PP și B_2. Acum se studiază mult rolul vitaminelor E și K, deoarece ele pot forma sisteme redox tampon reversibile. Dacă pînă în prezent se admitea că numai vitaminele hidrosolubile, în special cele din grupul B, pot forma partea activă a fermenților de oxido-reducere, astăzi numeroși cercetători arată că și vitaminele liposolubile pot apărea ca parte activă a diferitelor sisteme fermentative. Astfel, B. N. Buchin și L. I. Areschina [1] arată primii că provitaminele și vitaminele A și D pot participa în diferite procese metabolice ca grupe prostetice a diferite sisteme fermentative. Recent, R. L. Lester și F. L. Crane [4] dau numele de coenzimă Q unei noi clase de homologi chinonici găsiți în natură la toate categoriile de animale, plante și microorganisme și care participă la reacțiile de transport de electroni și la fosforilările oxidative. Din cadrul substanțelor ce alcătuiesc marea grupă a coenzimei Q fac parte și vitaminele E și K. În lucrările lui C. Martius și D. Nitz-Litzow [5], vitaminei K i se atribuie un rol important în oxidarea celulară. De fapt, prin structura ei chinonică vitamina K poate funcționa ca sistem redox reversibil, prin trecerea de la chinonă la difenol și invers.

Conform schemei lui Martius [9], vitaminele K și E participă în catena transportorilor de hidrogen (electroni). Vitamina K ar fi redusă de $DPNH_2$ și reoxidată de citocromul b, iar vitamina E este redusă de citocromul b și oxidată de citocromul c (avînd astfel un rol asemănător factorului Slater). Din aceste motive am cercetat comportarea vitaminelor E și K asupra sistemului fericianură-ferocianură, care este

asemănător cu comportarea sistemului feri-fero a citocromilor, în același timp cu acțiunea lor oxido-reducătoare sub influența luminii.

Vitamina E are proprietăți oxido-reducătoare bine cunoscute, fiind un antioxidant important.

În cercetările noastre am folosit vitamină E din fiole CIF ce conțin 0,03 g acetat de tocoferol/ml soluție uleioasă. Am constatat mai întîi că ea reduce la lumină albastrul de metilen, pe care îl trece în produsul leuco. Acțiunea reducătoare a vitaminei E se manifestă și asupra sării de tetrazoliu incolore, pe care o reduce în mediul alcalin la formazan roșu.

Am constatat de asemenea că vitamina E reduce în mod cantitativ, la lumină, fericianura la ferocianură. Pentru aceasta am utilizat soluție de vitamină E 3% din fiole CIF. S-au luat 2 ml apă distilată și 2 ml soluție de fericianură, ca pentru dozarea glucozei după Hagedorn-Jensen, și diferite cantități de vitamină E. S-a procedat mai departe ca și la dozarea glucozei după aceeași metodă. Rezultatul l-am exprimat în ml tiosulfat 0,005 n utilizați pentru titrarea fericianurii ce nu a fost redusă de vitamina E. S-a repetat experiența în mod identic, utilizînd însă, în loc de mediu apos, mediu alcoolic. Rezultatele sînt date în tabela alăturată.

Tabelă

Reducerea fericianurii de potasiu de către vitamina E

Soluție 3% de vitamina E adăugată ml	Tiosulfat 0, 005 n pentru titrarea fericianurii ml	
	mediu apos	mediu alcoolic
0,05	1,35	1,40
0,1	1,35	1,18
0,15	1,08	0,93
0,2	0,85	0,71
Martor	1,98	1,88

K e n n e t h [3] arată rolul lipidelor în transmiterea de electroni, dovedind că tocoferolul este un cofactor specific citocrom-c-reductazei. Îndepărtarea progresivă a vitaminei E este însoțită de pierderea progresivă a proprietății citocromreductazei. De altfel, rolul antioxidant al vitaminei E pledează pentru presupunerea că ea are rol în transportul de electroni la nivelul citocromilor, pe care îi reduce așa după cum reduce și fericianura. Se știe însă că fiecărei reduceri trebuie să-i corespundă o oxidare, fără de care viața este imposibilă. Acesta pare să fie rolul coenzimei Q care are ca parte activă vitamina K. Vitamina K [preparat CIF] cu care am lucrat este sarea de sodiu a derivatului bisulfitic al 2-metil-1, 4-naftochinonei în soluție apoasă $1^0/_{00}$. Bisulfitul, după cum se știe, fiind un puternic reducător, reduce fericianura. De aceea a fost necesară anularea acțiunii sale cu ajutorul iodului. Excesul de iod este apoi îndepărtat prin fierbere.

S-a lucrat la lumina unui bec de 200 Watt cu diferite concentrații de vitamină K, căutînd pe cît posibil să obținem concentrațiile optime ce dau reacția.

Am cercetat mai întîi comportarea vitaminei K față de fenolftalina redusă, care la lumină este oxidată la fenolftaleină roșie în mediu alcalin.

Reacția la lumină o executăm în mediu neutru — reactiv Kastle-Meyer neutralizat cu acid fosforic. Pentru a se vedea rezultatul reacției la lumină se adaugă la sfîrșit una, două picături dintr-o soluție de NaOH N/10, pentru a căpăta un mediu ușor alcalin în care fenolftaleina rezultată la lumină prin oxidarea fenolftalinei de către vitamina K să dea coloratie roșie. Nu se lucrează direct în mediu alcalin, deoarece vitamina K trece într-un compus de culoare brun-roșietică, care însă nu se poate confunda cu culoarea roșie, netă, a fenolftaleinei.

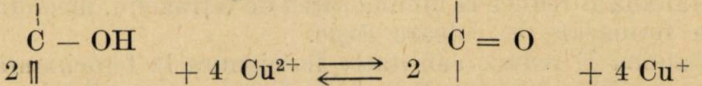
Am constatat de asemenea că vitamina K apare ca un acceptor de hidrogen și de la adrenalină, pe care o oxidează, sub influența luminii, la adrenocrom.

Sistemul formazan-sare de tetrazoliu, în prezența vitaminei K, a dat la lumină un rezultat negativ, deoarece potențialul de oxido-reducere a formazanului este superior potențialului de oxido-reducere a vitaminei K, iar din punct de vedere termodinamic este imposibil ca vitamina K să fie redusă de formazan.

Făcînd toți martorii posibili, am constatat că la lumină vitamina K oxidează ferocianura la fericianură, care se pune în evidență cu o sare feroasă ce dă cu fericianura formată un precipitat albastru.

Cum am arătat, vitamina K fiind un acceptor de electroni, la fel ca și alte chinone, oxidează fierul feros la fier feric, spre deosebire de vitamina E care reduce fierul feric la fier feros. Așa cum am văzut, concomitent se produce o schimbare de pH spre latura slab alcalină, ceea ce desigur trebuie luat în seamă în interpretările ce se fac la acest nivel unde are loc activarea oxigenului.

În legătură directă cu aceste constatări este nimerit să fie amintit rolul peroxidazei și al catalazei în activarea oxigenului. D. I s ă c e s c u și V. U r s u [2] arată că catalaza are aceeași grupare prostetică ca și hemina și dă aceeași reacție peroxidazică cu benzidina și apa oxigenată pe care o dă și sîngele la pH-ul optim de 4—5,5. Cercetătorii au obținut un produs albastru cu catalaza, întocmai ca și cu hemina, iar cantitatea de precipitat este proporțională cu cantitatea de hemină care intră în lucru, ceea ce pledează împotriva unei reacții de cataliză. Aceleași rezultate au obținut și cu sărurile de fier sau de cupru. Reacția Thomas-Carpantier arată același lucru pentru fenolftalină, în prezența apei oxigenate și a sulfatului de cupru. Amintim de asemenea, în legătură cu aceasta, lucrarea lui U r i o n-C h a p o n [10] asupra oxidării cuplate a acidului ascorbic prin oxigenul molecular în prezența cuprului



$$4\ Cu^{+} + 2O_2 + H^{+} \rightleftharpoons 4\ Cu^{2+} + 2\ H_2O$$

$$2\ H_2O_2 \rightleftharpoons 2\ H_2O + O_2$$

Aceste reacții sugerează bine rolul ce l-ar putea avea urmele de cupru în reacțiile de oxido-reducere în faza terminală a activării oxigenului, ultim acceptor de hidrogen. Formarea complecșilor de cupru, stabilită de D. I s ă c e s c u în reacțiile peroxidazice și catalazice, confirmă această supoziție. În legătură cu rolul pe care l-ar putea avea cuprul, s-a dovedit experimental că ingerarea de cupru restaurează activitatea citocromoxidazică pierdută în regimul lactat, iar fierul nu o poate face.

În legătură cu reacțiile peroxidazice, apare de o deosebită importanță de amintit faptul că ele se pot realiza și în absența apei oxigenate [6], [7]. În reacțiile peroxidazice avem două etape : în prima etapă hemul este acceptor de hidrogen, iar în a doua etapă trece pe oxigenul activ eliberat de apa oxigenată pentru a da apă. Aceasta ne-a făcut să ne gîndim la realizarea oxidării fenolftalinei în prezența hemoglobinei, fără adaos de apă oxigenată. Am realizat aceasta întocmai ca și cu vitamina PP, care oxidează fenolftalina la lumină, în absența apei oxigenate. La aceeași cantitate de fenolftalină reacția este proporțională cu cantitatea de hemoglobină, exact cum se întîmplă și cu ceilalți acceptori de hidrogen studiați : vitamina B_2, vitamina PP și vitamina B_6 [6], [7], [8]. Analogia de structură a vitaminei B_{12} cu hemoglobina ne-a determinat să încercăm reacția de oxidare a fenolftalinei în lipsa apei oxigenate și a sistemului peroxidazic, dar în prezența vitaminei B_{12}. Am găsit o proporționalitate între intensitatea de culoare și cantitatea de vitamină B_{12}.

Pentru a confirma rezultatele, am ales un alt donor de hidrogen, care își schimbă culoarea cînd îl cedează la lumină hemoglobinei sau vitaminei B_{12}. Pentru aceasta am utilizat adrenalina și am obținut rezultate complet paralele cu cele obținute cu fenolftalina și în fiecare caz proporționale cu cantitatea de hemoglobină sau de vitamină B_{12}.

Rezultatele tuturor acestor experiențe au importanță, deoarece arată legătura dintre hemoglobină și reacțiile de oxido-reducere legate de transportul de hidrogen și electroni în procesul respirației tisulare.

CONCLUZII

Vitaminele E și K joacă un rol important în procesele de oxido-reducere :

— vitamina E reduce albastrul de metilen la leucoalbastru de metilen, întocmai ca și vitamina C.

— vitamina E reduce la lumină sarea de tetrazoliu, incoloră sau ușor gălbuie, în formazan de culoare roșie.

— vitamina E reduce cantitativ fericianura la ferocianură, cînd se lucrează în condițiile metodei Hagedorn-Jensen pentru dozarea glucozei.

În opoziție cu vitamina E care este reducătoare, vitamina K este oxidantă. Ea oxidează la lumină fenolftalina redusă, la fenolftaleină roșie în mediu alcalin.

— Vitamina K trece adrenalina în adrenocrom și oxidează ferocianura la fericianură.

S-a obținut oxidarea fenolftalinei la fenolftaleină de către hemoglobină sau vitamina B_{12}, la lumină, în absența apei oxigenate.

— Utilizînd adrenalina în locul fenolftalinei în calitate de donor de hidrogen, am obținut la lumină oxidarea adrenalinei la adrenocrom de către hemoglobină sau vitamina B_{12}.

Institutul de medicină, Laboratorul de biochimie, Iași

Prezentată la redacție la 21 iulie 1960

К ВОПРОСУ ОБ ИЗУЧЕНИИ ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНОГО ДЕЙСТВИЯ ВИТАМИНОВ

Сообщение VII. НЕКОТОРЫЕ ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫЕ РЕАКЦИИ ВИТАМИНОВ Е и К

РЕЗЮМЕ

Принимая во внимание значение липорастворимых витаминов и, в особенности, витаминов Е и К в реакциях, протекающих с переносом электронов, автор поставил себе целью исследовать окислительно-восстановительные реакции витаминов Е и К, имеющие место под действием света.

В ходе исследования было установлено, что витамин Е, подобно витамину С, восстанавливает метиленовую синь до лейкометиленовой сини, а также под воздействием света восстанавливает бесцветную или слегка окрашенную в желтый цвет соль тетразолия до красного формазана. Выяснилось, что в условиях определения глюкозы по методу Гагедорна-Йенсена, витамин Е количественно восстанавливает феррицианид до ферроцианида.

Было констатировано, что, в противоположность витамину Е, витамин К является окислителем; под действием света он окисляет восстановленный фенолфталин до красного фенолфталеина в щелочной среде. Витамин К окисляет ферроцианид до феррицианида, а также адреналин до адренохрома.

Был выполнен ряд пероксидазных реакций при отсутствии перекиси водорода, как, например, окисление на свету фенолфталина до фенолфталеина гемоглобином или витамином B_{12}. Используя в качестве донора водорода вместо фенолфталина адреналин, удалось окислить на свету адреналин до адренохрома, под действием гемоглобина или витамина B_{12}.

CONTRIBUTION À L'ÉTUDE DE L'ACTION OXYDO-RÉDUCTRICE DES VITAMINES

NOTE VII. CERTAINES RÉACTIONS D'OXYDO-RÉDUCTION DES VITAMINES E ET K

RÉSUMÉ

Etant donné l'importance des vitamines lipo-solubles, et tout spécialement celle des vitamines E et K, au cours des réactions des transporteurs d'électrons, les auteurs se sont proposé d'étudier certaines réactions d'oxydo-réduction des vitamines E et K, qui ont lieu sous l'action de la lumière.

Au cours des recherches, ils ont constaté que la vitamine E réduit le bleu de méthylène, en le transformant en leuco-bleu de méthylène, exactement comme la vitamine C. Elle réduit aussi, à la lumière, le sel de tétrazol, incolore ou légèrement jaunâtre, en formazane, dont la couleur est rouge. Ils ont également constaté que, en travaillant suivant la méthode de Hagedorn-Jensen de dosage du glucose, ils obtiennent à l'aide de cette même vitamine E une réduction quantitative du ferricyanure en ferrocyanure.

A l'opposé de la vitamine E, la vitamine K est oxydante : à la lumière, elle oxyde la phénolphtaline réduite en phénolphtaléine rouge, en milieu alcalin. Elle oxyde le ferrocyanure, en ferricyanure, et l'adrénaline, en adrénochrome.

Toute une série de réactions peroxydasiques ont été obtenues en l'absence de l'eau oxygénée, par exemple : oxydation de la phénolphtaline en phénolphtaléine par l'hémoglobine ou par la vitamine B_{12}, en absence de l'eau oxygénée, mais à la lumière. En prenant, pour donneur d'hydrogène, l'adrénaline, au lieu de la phénolphtaline, les auteurs ont obtenu, à la lumière, l'oxydation de l'adrénaline en adrénochrome, soit par l'hémoglobine, soit par la vitamine B_{12}.

BIBLIOGRAFIE

1. Букин Б. Н., Арескина Л. И., Биохимия, **XII**, 448 (1950).
2. ISĂCESCU D., URSU V., Studii şi cercetări de chimie, Acad. R.P.R., **VII**, *2*, 231 (1960).
3. KENNETH, citat după LOWY R., Biologie Médicale, **48**, 110 (1959).
4. LESTER R. L., CRANE F. L., J. Biol. Chem. **224**, *8*, 2168 (1959).
5. MARTIUS C., D. NITZ-LITZOW, Biochem. Biophys. Acta, **XIII**, 289 (1954).
6. SIBI M., BATCU A., GHEORGHIU I., FAIGHELIS C., Sesiunea ştiinţifică Acad. R.P.R., volum omagial, 1950, 1954.
7. SIBI M., BATCU A., GHEORGHIU I., Acad. R.P.R., filiala Iaşi, Studii şi cercetări ştiinţifice, **IV**, 291 (1953).
8. SIBI M., BATCU A., TRANDAFIR C., Studii şi cercetări de biochimie, **I**, 228 (1958).
9. SORU E., *Biochimie medicală*, Bucureşti, Ed. medicală, ediţia a II-a, 1959, **I**.
10. URION-CHAPON, Bull. Soc. Chim. Biol., **38**, 1212 (1956).

A. I. OPARIN, *Originea vieții pe pămînt* (Возникновение жизни на земле).

Traducere din limba rusă, Ed. științifică, București, 1960, 475 pag., 6 tabele și 74 figuri, prețul lei 15,20.

„În principiu, evoluția actuală a ființelor vii nu reprezintă altceva decît adăugarea de noi verigi la lanțul neîntrerupt al transformărilor materiei, al cărui început se pierde în stadiile primare ale existenței Pămîntului". În această frază, cu care A. I. Oparin își încheie prezentarea problemei originii vieții pe pămînt, este pe deplin oglindită poziția pe care s-a situat el în încercarea de a descoperi căile de trecere de la materia nevie la materie vie, în acele momente îndepărtate ale existenței globului terestru : analiza amplă și profundă a acestei probleme, prin prisma principiilor materialismului dialectic, permite autorului să ajungă la concluzii perfect logice, să ne redea foarte apropiat de adevăr, probabil, desfășurarea procesului.

În primele trei din cele 9 capitole ale cărții, sînt prezentate în mod critic principalele încercări de soluționare a problemei originii vieții pe pămînt propuse pînă acum ; în următoarele șase, autorul dezvoltă, pe baza celor mai recente rezultate ale diverselor științe, ipoteza sa asupra modului în care au apărut primele organisme și evoluția lor ulterioară. Una din ideile fundamentale pe care se bazează autorul fusese exprimată de el încă din 1922 : posibilitatea ca încă de la început organismele să fi avut un mod de nutriție heterotrof, ca urmare a posibilității formării abiogene a compușilor organici încă înainte de apariția vieții. Existența hidrocarburilor în rocile vulcanice și în meteoriți reprezintă o dovadă indiscutabilă a acestei aserțiuni. De la această formă imperfectă de sinteză organică — abiogenă — s-a trecut, în cadrul unei evoluții foarte îndelungate, la forma superioară de sinteză organică — fotosinteza.

Apariția sistemelor organice polimoleculare, organizarea lor în timp și spațiu este prezentată pe larg, deoarece ea reprezintă etapa imediat premergătoare apariției primelor organisme ; caracterele specifice pe care le capătă materia în momentul apariției primelor organisme sînt subliniate într-un capitol special.

Cuvintele din încheierea cărții ne prezintă în mod succint diversele moduri de a pune problema apariției vieții pe pămînt și ne dau siguranța „că sinteza vieții nu este de domeniul unui viitor prea îndepărtat".

Fiecare capitol se încheie cu o bogată bibliografie, care permite celui interesat în diversele aspecte speciale ale problemei tratate să se documenteze mai amănunțit.

Traducerea în limba romînă este realizată într-un limbaj corect, de către L. Renert, sub îngrijirea științifică a Acad. prof. E. Macovschi.

Sanda Rădulescu
Institutul de biochimie al Academiei R.P.R.

F. BRUNO STRAUB, *Biochemie (Biochimia)*, Verlag der Ungarischen der Wissenschaften, Budapest, 1960.

În 1960 a apărut în editura Academiei de Ştiinţe din R. P. Ungară tratatul de Biochimie al academicianului F. Bruno Straub, directorul Institutului de Biochimie al Universităţii de Medicină din Budapesta.

Deşi tratatul acesta este dedicat în special celor care doresc să se specializeze în medicină şi fiziologie animală, totuşi bogatul şi valorosul material pe care-l cuprinde poate fi de mare folos şi celor care urmăresc specializarea şi în alte ramuri ale biologiei. Este de subliniat că, o dată cu descrierea diferitelor categorii de substanţe ce se află în organism, autorul arată biogeneza şi degradarea lor, ceea ce uşurează înţelegerea proceselor biochimice care se produc în fiinţele vii.

Cartea cuprinde două părţi şi o completare. Partea întîi se referă la substanţe proteice, biocatalizatori, energetica organismului, aminoacizi, glucide, lipide, acizi nucleinici, vitamine şi hormoni iar în partea a doua se descrie biochimia digestiei, sîngelui, laptelui, circulaţia apei şi a substanţelor dizolvate. biochimia contracţiei musculare, a sistemului nervos, a vederii, a pielii, precum şi biochimia ţesutului conjunctiv. Completarea cuprinde indicaţii preţioase cu privire la literatura de specialitate, tratate, reviste, precum şi o serie de date relative la metodele de cercetare în biochimie, ca de exemplu pH-ul, potenţialul de oxidoreducţie, electroforeza, titrările electrometrice, ultracentrifugarea, cromatografia, schimbătorii de ioni, utilizarea izotopilor radioactivi în biochimie, metodele de cercetare ale metabolismului.

Întregul material este expus pe 723 pagini, iar fiecare capitol este însoţit de o listă bibliografică bine întocmită.

Cartea tipărită în limba germană este bună, interesantă, cuprinde un bogat material informativ şi poate fi de un real folos studenţilor noştri, mai ales celor de la medicină.

Acad. Eugen Macovschi

★

I. PROBLEME GENERALE. METODE DE CERCETARE

729. POPESCU I., ZAMFIRESCU-GHEORGHIU M., *Structura şi metabolismul muşchiului cardiac normal*. Studii şi cercet. med. int., 1960, **1**, *1*, 7—21.

Referat general asupra structurii, metabolismului şi mecanismului de contracţie cardiacă, cu 16 indicaţii bibliografice.

C. Iordache

730. MICU D., *Hemoglobinele umane anormale.* Studii şi cercet. med. int., 1960, **1**, *1*, 23—30.

Referat general fără indicaţii bibliografice.

C. Iordache

731. POPESCU I. şi ZAMFIRESCU-GHEORGHIU M., *Metabolismul miocardului insuficient.* Studii şi cercet. med. int., 1960, **1**, *2*, 127—143.

Referat general cu 21 de indicaţii bibliografice.

C. Iordache

732. CONSTANTINESCU E., *Importanţa polizaharidelor pentru biochimia sistemului nervos central.* Studii. şi cercet. neur., 1960, **V**, *1*, 79—89.

Referat general cu 32 de indicaţii bibliografice.

N. Luţă-Moldoveanu

733. LONGHIN S., *Vitaminele şi hormonii în dermatologie.* Dermatovener., 1960, **V**, *1*, 15—41.

Raport prezentat la cea de a III-a consfătuire de dermatovenerologie pe ţară, Craiova, 16—18. X. 1959.

C. Şelariu

734. CONSTANTINESCU D. şi OŢELEANU RODICA, *Contribuţii la studiul mecanismului reacţiei de oxidoreducere acid ascorbic-ionul Ag^+ .O nouă metodă de dozat vitamina C.* Farmacia, 1960, *1*, 59—66.

La un pH între 2,36 şi 7, molecula de acid ascorbic este oxidată de 2 ioni Ag^+ iar la pH 12 de 4 ioni Ag^+. S-a elaborat o metodă de dozare a vitaminei C prin evaluarea fotometrică a Ag metalic rezultat din reacţie.

L. Arnet

735. VASILIU G. şi BOJOI P., *Metodă pentru determinarea capacităţii de adsorbţie a hidroxidului de aluminiu cu ajutorul proteinelor serice.* Lucr. şt. Inst. S.V. Pasteur, Buc., 1958, **III**, 451—458.

Se evaluează capacitatea de adsorbţie a gelului prin cantitatea de proteină serică adsorbită. Proteina se dozează, înainte şi după adsorbţie, refractometric şi gravimetric. Adsorbţia este maximă în mediu acid şi după autoclavare şi depinde de natura şi concentrarea gelului.

D. Tănăsescu

736. IUSTER I. şi BANC S., *Metodă fotometrică pentru determinarea capacităţii de adsorbţie a hidroxidului de aluminiu cu ajutorul hemoglobinei.* Lucr. şt. Inst. S.V. Pasteur, Buc., 1958, **III**, 467—471.

Determinarea se face prin diferenţa între conţinutul înainte şi după adsorbţie de către 0,3 ml gel a unei soluţii de hemoglobină 1% la pH optim 5,1. Autoclavarea măreşte adsorbţia.

D. Tănăsescu

737. COMOROŞAN S., *Stafilocoagulaza.* Microbiol. parazitol., 1959, 2, 97—102.

Referat general cu 20 de indicaţii bibliografice.

D. Tănăsescu

738. BOTEZ G., TEODOROVICI G., LUPUŞOR G., NIŢESCU S. şi BERNESCU E., *Prepararea tabletelor cu antibiotice pentru determinarea sensibilităţii bacteriilor prin metoda difuzimetrică.* Microbiol. parazitol., 1959, *2*, 163—170.

Se descrie o perfecţionare a metodei difuzimetrice cu discuri de hîrtie de filtru. Tabletele se confecţionează din caolin, stearat de aluminiu, talc, detersin, tampon fosfat şi un antibiotic dat în conc. de 0,5—8 mg/tabletă. Metoda tabletelor este superioară metodelor difuzimetrice.

D. Tănăsescu

739. IONESCU-MIHĂIEŞTI C. şi ZAMFIRESCU M., *Expunerea rezultatelor generale ale sesiunii de la Moscova asupra poliomielitei (iunie 1958).* Microbiol. parazitol., 1959, *2*, 181—187.

Trecere în revistă a principalelor referate şi comunicări susţinute în cursul acestei sesiuni.

D. Tănăsescu

740. MÎRZA D. V., *Biologia substanţei vii.* Morfol. norm., pat., 1960, **V**, *1*, 5—28.

Lucrare de orientare şi sinteză.

C. Şelariu

741. VASILIU V., *Biochimia, electrofiziologia şi fiziopatologia contracţiei uterine* (partea I). Obstetr., ginecol., 1960, **VII**, 2, 97—110.

Referat general, fără indicaţii bibliografice.

C. Şelariu

742. FESZT G., *Despre mecanismul de acțiune și aplicarea terapeutică a noilor medicamente diuretice.* Rev. med. Tg. Mureș, 1959, *3*, 283—286.

Referat general fără indicații bibliografice.

S. Vasu

743. KISS A., *Folosirea compușilor organici de sinteză în tratamentul tumorilor maligne.* Rev. med. Tg. Mureș, 1959, *3*, 287—292. Referat general fără indicații bibliografice.

S. Vasu

744. ANDRIUCA A. și BORDA M., *Metode de investigație pentru determinarea concentrației în electroliți a lichidului extra-celular. Realizarea practică a unui dispozitiv de măsură.* Timișoara medic., 1957, **II**, *5—6*, 621—627.

Se prezintă critic trei metode din literatură: metoda determinării ionogramei complete, metoda crioscopică și metoda determinării rezistivității. Autorii folosesc ultima metodă care necesită o cantitate mică de lichid și este mai precisă. Se arată modificările aduse unui dispozitiv existent în laborator pentru măsurarea rezistivității lichidului extracelular.

S. Mihăescu

745. ASATIANI V. S., *Folosirea fermenților în cercetarea materialului biologic.* An. rom.-sov., biol., 1960, **XIV**, *1*, 120—144.

Referat general cu 121 de indicații bibliografice.

L. Arnet

746. FEDIN L. A. și AGROSKIN L. S., *Microscopul cu televiziune — un ansamblu de aplicare a metodelor fizice de cercetare în biologie.* An. rom.-sov., biol., 1960, **XIV**, *1*, 180—191.

Referat general cu 58 de indicații bibliografice.

L. Arnet

747. SEMENOV D. I., *Complexonii în biologie și medicină.* An. rom.-sov., chim., 1960, *1*, 104—114.

Referat general fără indicații bibliografice.

D. Moțet-Grigoraș

748. ENGELHARDT V. A., *Unele probleme ale biochimiei moderne.* An. rom.-sov., chim., 1960, *1*, 137—165.

Referat general cu 24 de indicaţii bibliografice.

D. Moţet-Grigoraş

749. KNORRE D. G., *Concepţii moderne asupra mecanismului biosintezei proteinelor.* An. rom.-sov., chim., 1960, *2*, 145—160.

Referat general cu 48 de indicaţii bibliografice.

D. Moţet-Grigoraş

750. LEBEDINSKI A. V., MOSKALEV I. I., *Unele probleme ale radiobiologiei contemporane.* An. rom.-sov., med. gen., 1960, **XI**, *1*, 126—140.

Referat general cu 35 de indicaţii bibliografice.

D. Moţet-Grigoraş

II. BIOCHIMIA PROTIDELOR

III. BIOCHIMIA GLUCIDELOR

IV. BIOCHIMIA LIPIDELOR

V. ENZIME

751. ISĂCESCU D. A. şi URSU V., *Studii asupra comportării catalazei faţă de celuloză.* Studii şi cercet. chim., 1960, **VIII**, *2*, 227—231.

Hîrtia de filtru nu inactivează catalaza, ci o reţine. Catalaza poate fi eluată din hîrtia de filtru, proprietate ce serveşte la concentrarea şi purificarea ei.

I. Tănase

752. ISĂCESCU D. A. şi URSU V., *Acţiunea oxidazică şi peroxidazică. VI. Izolarea şi studiul complexului albastru obţinut din catalază, hemină sau $FeSO_4$ cu benzidină în prezenţa H_2O_2.* Studii şi cercet. chim., 1960, **VIII**, *2*, 231—237.

Hemina şi benzidina se comportă faţă de H_2O_2 ca peroxidază şi catalază, după pH-ul mediului.

I. Tănase

VI. VITAMINE, HORMONI, ALȚI COMPUȘI BIOACTIVI

753. NIȚESCU I. I., CORNEANU M. și BORDEIANU A., *Cercetări privind relația dintre funcția endocrină a ovarului și motilitatea tubului digestiv.* Studii și cercet. fiziol., 1960, **V**, *1*, 43—48.

Studiind cu ajutorul metodei viscerografiei influența hormonilor ovarieni asupra motilității digestive, se constată că foliculina exercită o acțiune inhibitoare. Inhibiția este suprimată prin acțiunea progesteronului, ceea ce prezintă un interes deosebit pentru tratamentul diferitelor stări hiperfoliculinice (constipație, meteorism, dureri abdominale ș.a.).

H. D. Schell

754. GROZA P. și CORNEANU M., *Cu privire la acțiunea hormonilor corticosuprarenali asupra funcției secretorii și motorii a stomacului.* Studii și cercet. fiziol., 1960, **V**, *1*, 67—77.

Cortenyl-ul (acetat de desoxicorticosteronă) nu produce perturbări de secreție în timpul administrării sale ; abia într-o perioadă ulterioară apare o scădere importantă a secreției. Administrarea de sherozon (cortizon) determină o scădere treptată a secreției, alături de o tendință de creștere a puterii digestive și a aciditățîi. Amîndouă substanțele provoacă dereglări importante ale motilității stomacului.

H. D. Schell

755. STERESCU N., *Cercetări privind mecanismul creșterii excitabilității centrilor vasomotori prin hormonul tireotrop hipofizar.* Studii și cercet. fiziol., 1960, **V**, *1*, 255—260.

Hormonul tireotrop administrat intravenos (la 14 pisici) determină inconstant după 5—10 minute și constant după 15—20 minute o creștere importantă a amplitudinii răspunsurilor tensionale reflexe la KCl introdus în circuitul vascular al ansei intestinale izolată *in situ*. Acest efect este atribuit eliberării în circulație a hormonilor tiroidieni, sub stimulul tireotrop hipofizar.

H. D. Schell

VII. BIOCHIMIA MICROBILOR. VIRUSURI. BACTERIOFAGI. ANTIBIOTICE. IMUNOCHIMIE

756. SORU E., DAVIDESCU Y. și TĂNĂSESCU D., *Cercetări asupra stafilochinazei. II. Cercetări fizico-chimice asupra stafilochinazei.* Studii și cercet. chim., 1960, **VIII**, *1*, 7—16.

Stafilochinaza este cofactor enzimatic prezent în echipamentul enzimatic al stafilococilor patogeni. Se dau rezultatele determinărilor unor caracteristici fizico-chimice ale unui pre-

parat de stafilochinază obținut în stare de puritate avansată (presiunea osmotică, densitatea în stare solidă și în soluții apoase, viscozitatea soluțiilor apoase, conductibilitatea electrică, tensiunea superficială, maximul de absorbție în ultraviolet).

M. Ungureanu

757. DIMITRIU O., VASILESCO T. et CERBU A., *Le mécanisme de l'immunité dans la Brucellose. I. L'évolution des anticorps dans l'infection expérimentale du cobaye, soumis à l'influence de certains facteurs modificateurs de l'immunité.* Arch. roum. pathol. expér., 1959, **XVIII**, *2*, 228—243.

Apariția, intensitatea și persistența anticorpilor este legată de virulența tulpinii și de numărul germenilor inoculați. Primii anticorpi care apar sînt cei blocanți, urmați de cei aglutinanți și de aglutinine. O vaccinare prealabilă stimulează apariția aglutininelor și a opsoninelor. Blocarea sistemului reticulo-endotelial și inhibarea sistemului nervos central întîrzie apariția aglutininelor și opsoninelor, scăzînd și titrul anticorpilor, în timp ce excitarea sistemelor favorizează apariția precoce și a unui titru mărit de aglutinine.

D. Tănăsescu

758. MESROBEANU L., ZILIȘTEANU C. et MITRICĂ N., *L'étude immunochimique des sérums anti-homme.* Arch. roum. pathol. expér., 1959, **XVIII**, *2*, 281—286.

S-a studiat cu ajutorul imuno-electroforezei, electroforezei în gel de agar și a difuziunii în gel, constituția imunochimică a serului de iepure, după inocularea unui antigen obținut din ser uman. Nu s-a constatat nici o corelație între titrul precipitant și titrul anti-globulinic. Spre deosebire de serul normal, serul precipitant anti-om se caracterizează printr-o creștere a beta-globulinelor și a lipidelor, în timp ce serul antiglobulinic anti-om prezintă o creștere a gama-globulinelor.

D. Tănăsescu

759. BARBER C., BALDOVIN-AGAPI C., BELOIU I. et CAFFE I., *Sur les antigènes spécifiques du type des pneumocoques. Note I. Pneumocoque type II.* Arch. roum. pathol. expér., 1959, **XVIII**, *2*, 286—295.

Din o suspensie de ClNa 0,9% a germenilor tratați cu fenol 90%, s-a izolat un complex polimerizat constituit din polizaharide și acid ribonucleic, cu o mare capacitate imunizantă pentru șoareci. Polizaharidul conține glucoză, ramnoză și acizi uronici.

D. Tănăsescu

760. IONESCU-MIHĂIEŞTI C., DÂMBOVICEANU A. et VAINER H., *Le métabolisme des amino-acides chez les Mycobactéries. Asparaginase et transaminases chez les bacilles tuberculeux de type humain H_{37} Rv et H_{37} a, de type bovin Vallée, de type aviaire Griffith et de la souche saprophyte Mycobacterium Phlei 61.* Arch. roum. pathol. expér., 1959, **XVIII**, *3*, 323—339.

Complexul enzimatic este mai bogat şi mai activ la Mycobacteriile saprofite decît la cele patogene. Activitatea enzimatică, pentru toate tulpinile studiate, are un maxim de activitate între primele 10—28 de zile de incubare la 37° şi scade cu îmbătrînirea culturilor, dispărînd după primele 135 de zile la tulpinile patogene şi după 58 de zile pentru cele saprofite. Activitatea enzimatică a tulpinilor patogene nu este influenţată de atenuarea virulenţei. Se semnalează şi prezenţa unei proteaze (de tip triptază) la tulpinile virulente umane şi a unei nucleotidaze la tulpina virulentă Vallée şi la cea saprofită Grassberger 55. S-a observat o activitate dehidrazică intensă la Mycobacterium Phlei 61 şi la bacilul bovin Vallée, dar scăzută la bacilul uman H_{37} Rv şi BCG (bacilul Calmette-Guérin).

D. Tănăsescu

761. CIUCĂ M., STAMATESCU-EUSTAZIOU S., BARBER C., VOINEA M. et TULPAN G., *Contribution à l'étude de la biologie des Klebsiella. I. Étude biologique et immunochimique de certaines souches de Klebsiella.* Arch. roum. pathol. expér., 1959, **XVIII**, *3*, 347—359.

Studiul comparativ a 7 tulpini arată că serurile preparate cu antigenele corpusculare au o mare capacitate de combinare cu polizaharidele specifice şi una mai mică cu mucoproteinele. Mucoproteinele capsulare, cu o singură excepţie, sînt antigene slabe. În tulpina MC_{57}, singura puternic antigenă, este menţionată prezenţa ramnozei. Nu s-a putut stabili nici un raport între dimensiunea capsulei, antigenitate şi virulenţa pentru şoareci. Tulpina cea mai virulentă este cea mai puţin antigenică.

D. Tănăsescu

762. MIHĂIŢĂ S., GEORGESCU V. şi CORMUS D., *Acţiunea mertiolatului de sodiu asupra unor culturi microbiene.* Lucr. şt. Inst. S.V. Pasteur Buc., 1958, **III**, 441—448.

Studiul făcut asupra a 18 specii bacteriene arată că acţiunea bactericidă a mertiolatului, urmărită în diverse concentraţii şi durate de contact, variază cu specia şi are un efect mai slab asupra celor capsulate şi nulă asupra Pasteurellei.

D. Tănăsescu

763. TACU A., POPESCU A. şi DONETZ A., *Contribuţii la studiul proprietăţilor fermentative ale bacilului rujetic.* Lucr. şt. Inst. S. V. Pasteur Buc., 1958, **III**, 475—479.

S-a studiat variația fermentării pentozelor, hexozelor și a dizaharidelor, prin modificarea pH-ului mediului, observată cu roșu de fenol (0,01 %). A fost realizat și un mediu, prin digestie triptică, apt pentru aceste experiențe.

D. Tănăsescu

764. TACU D. și TACU A., *Studiu asupra reacției de hemoliză condiționată și hemaglutinare pasivă în tuberculoza bovină.* Lucr. șt. Inst. S.V. Pasteur Buc., 1958, **III**, 531—538.

S-a constatat, în general, o concordanță între reacțiile de hemoliză și hemoaglutinare, care sînt pozitive la 64 % din animalele bolnave.

D. Tănăsescu

765. TACU D., *Valoarea reacției de hemoaglutinare în anemia infecțioasă a calului.* Lucr. șt. Inst. S.V. Pasteur Buc., 1958, **III**, 549—554.

Proba hemoaglutinării s-a dovedit a fi o metodă ajutătoare pentru diagnostic.

D. Tănăsescu

766. BITTNER J., *Imunizarea activă antigangrenoasă.* Microbiol. parazitol., 1959, *2*, 103—117.

Sistematizare a datelor teoretice și practice din 32 de indicații bibliografice.

D. Tănăsescu

767. DEREVICI A., PETRESCU A. și ATHANASIU P., *Studiu experimental al imunogenității tulpinilor de virus gripal izolate în R.P.R. în perioada epidemică și postepidemică.* Microbiol. parazitol., 1959, *5*, 405—409.

Toate tulpinile izolate sînt de același tip — A/PR 8/ — cu cele care au circulat înaintea apariției tulpinilor de tip asiatic A_2. Se remarcă buna imunogenitate a tulpinilor de virus gripal postepidemice, care pot servi astfel la prepararea vaccinurilor față de aceleași tulpini.

D. Tănăsescu

768. KRISS A. E. și MARKIANOVICI E. H., *Utilizarea humusului acvatic din apa mării de către microorganisme.* An. rom-sov., biol., 1960, **XIV**, *1*, 54—62.

Humusul acvatic, în întreaga coloană de apă a mărilor și oceanelor, de la orizonturile superioare pînă la adîncimi de cîteva mii de metri, suferă transformări la suprafața de separare a particulelor solide suspendate și a apei, devenind accesibil pentru activitatea mineralizantă a

microorganismelor; în privința acestei capacități de transformare în forme atacabile de fermenții bacterieni, nu s-au constatat deosebiri între humusul acvatic al orizonturilor de suprafață și cel de la marile adîncimi ale mării.

L. Arnet

VIII. BIOCHIMIE VEGETALĂ

769. LUPEA V., BODEANU V. și BURGER H., *Cercetări în legătură cu conținutul în vitamină B_1 a pîinii obținută din făina de diferite extracții.* Rev. igienă, 1960, *1*, 71—75.

Conținutul în vitamină B_1 al pîinii depinde de gradul de extracție al făinii și de modul de fabricare și de coacere a ei. Determinările de tiocrom arată că pîinea neagră cuprinde 316 γ vitamină B_1/100 g, cea intermediară 185γ/100 g, iar cea albă 57 γ/100 g. Ținînd seama de coeficientul de asimilare, se recomandă consumarea pîinii intermediare.

A. Popescu

770. BLAZSEK V., KEMENY G. și RACZ G., *Prezența unor substanțe noi cu efect florizinic în păr (Pyrus communis L.).* Rev. med., Tg. Mureș, 1959, *3*, 318—321.

Prin cromatografie pe hîrtie se evidențiază în organele vegetative ale părului două substanțe care exercită un puternic efect inhibitor asupra activității fosfatazei alcaline. Ele conțin probabil un nucleu fluoroglicinic.

S. Vasu

771. KUZIN A. M., KRIUKOVA L. M., SAENKO G. N. și IAZIKOVA V. A., *Formarea în plante, sub acțiunea iradierii, a unor substanțe care încetinesc diviziunea celulelor, creșterea și dezvoltarea plantelor.* An. rom.-sov., biol., 1960, **XIV**, *1*, 27—31.

Cercetarea influenței exercitate asupra creșterii și activității mitotice a plantelor de către substanțele hidrosolubile extrase din plantele normale și din cele iradiate arată că în țesuturile iradiate ale plantelor se formează substanțe care inhibă creșterea și dezvoltarea embrionilor semințelor (în proporție de 22—30%), precum și activitatea mitotică (în proporție de 38%), în stratul subepidermic al secțiunilor transversale prin radicele, în zona unde începe diferențierea țesutului rădăcinii.

L. Arnet

772. BARSKAIA E. I. şi OKNINA E. Z., *Rolul acizilor nucleici în procesele de creştere şi în starea de repaus a mugurilor culturilor de pomi fructiferi.* An. rom.-sov., biol., 1960, **XIV**, *1*, 63—70.

În timpul trecerii culturilor de pomi fructiferi în starea de repaus, conţinutul în acizi nucleici din muguri scade iar după terminarea stării de repaus el creşte. Această „dinamică sezonieră a acizilor nucleici" este pregnantă în special la plantele aflate în repaus adînc şi la cele slab pregătite pentru repaus. Conţinutul ridicat de acizi nucleici în procambiu denotă activitatea fiziologică ridicată a căilor conducătoare nediferenţiate iar conţinutul ridicat de acizi nucleici în ţesuturile necrozate indică rolul protector al celor dintîi şi contribuţia lor la o sinteză mai activă pentru completarea lipsei proteinelor din celulele lezate.

L. Arnet

773. RUBIN B. A., *Bazele biochimice ale imunităţii plantelor.* An. rom.-sov., agr.-zoot., 1960, **XIV**, *3* (*55*), 112—127.

Se caracterizează unele particularităţi ale microorganismelor fitopatogene, precum şi compuşii biologic activi sintetizaţi de acestea (stimulatori, fermenţi, antibiotice, toxine etc.). Se studiază interacţiunea dintre substanţele fiziologic active sintetizate de microorganisme şi protoplastul celulelor plantei. Se discută rolul respiraţiei în fenomenele de imunitate ale plantelor şi se trec în revistă rezultatele cercetărilor în acest domeniu.

C. Săndulescu

IX. BIOCHIMIE ANIMALĂ

774. BENETATO GR., GABRIELESCU E., PARTENI L., BOROS I. şi BORDEIANU A., *Contribuţii noi la studiul histo- şi biochimismului cerebral în encefalo-mielitele alergice experimentale.* Studii şi cercet. fiziol. 1960, **V**, *1*, 9—27.

La animalele inoculate, chiar în prima săptămînă se constată o pierdere a afinităţii tinctoriale a proteinelor din axul cerebrospinal pentru reactivul Danielli, cu un maxim după 20—30 de zile de la inoculare, cînd au apărut leziunile de demielinizare. Se constată modificări histochimice şi la nivelul constituenţilor lipidici, precum şi o diminuare a potasiului tisular din creier şi măduvă, spre deosebire de cel seric, care creşte. Se demonstrează existenţa unei profunde dereglări a edificiilor macromoleculare proteice din ţesutul nervos în encefalite alergice demielinizante.

H. D. Schell

775. PARHON C.C. şi BÎRZĂ E., *Acţiunea glutationului asupra metabolismului în timpul activităţii musculare.* Studii şi cercet. fiziol., 1960, **V**, *1*, 49—52.

Se constată că administrarea de glutation reduce consumul de oxigen al şobolanilor albi în timpul activităţii musculare.

H. D. Schell

776. VASILESCU V., BITTMAN E., FOTINO S. şi IONESCU C., *Cercetări chimice şi experimentale privind acţiunea unor derivaţi nitroaromatici asupra excitabilităţii neuro-musculare.* Studii şi cercet. fiziol., 1960, **V**, *1*, 59—65.

Cercetările făcute pe 19 persoane care lucrau cu trinitrotoluen, paranitroclorbenzen şi alfa-nitronaftalină au arătat o scădere a cronaxiei flexorilor şi extensorilor mîinii, după 6 ore de lucru.

H. D. Schell

777. CHIOSA L., HAULICĂ I. şi HAULICĂ A., *Proprietăţile farmacologice ale unei oxime, clorura de fenaciloxim-piridinium. Nota III. Acţiunea asupra musculaturii netede şi secreţiei salivare.* Studii şi cercet. fiziol., 1960, **V**, *1*, 79—87.

Cercetările efectuate pe musculatura netedă bronhică şi intestinală, precum şi pe secreţia salivară, au arătat că produsul posedă o acţiune blocantă predominantă la nivelul structurilor colinergice şi că anumite efecte adrenergice rezultă din blocarea mediaţiei colinergice a sistemului adrenergic. Pe lîngă acţiunea ganglioplegică, substanţa posedă şi proprietăţi de tip atropinic.

H. D. Schell

778. FLORU R., STERESCU-VOLANSCHI M., COSTIN A. şi POPESCU I., *Cercetări asupra relaţiilor centrale dintre serotonină şi unele droguri psihotrope.* Studii şi cercet. fiziol., 1960, **V**, *1*, 89—101.

Experimentînd pe 14 cîini, autorii arată că administrarea intravenoasă a serotoninei scade intensitatea procesului de excitaţie corticală şi concentrarea procesului inhibitor, efecte ce pot fi antagonizate prin dietilamida acidului lisergic sau prin derivatul său bromat. Se constată, de asemenea, că atît serotonina, cît şi noradrenalina în doze mici, determină pe fondul administrării reserpinei în doze mici o inhibiţie a reflexelor condiţionate pozitive.

H. D. Schell

779. ROSNER I., *Acţiunea dinitrofenolului asupra activităţii nervoase superioare pe indicatorul salivar.* Studii şi cercet. fiziol., 1960, **V**, *1*, 127—133.

Cu ajutorul unor experienţe cronice efectuate pe 3 cîini, autorul demonstrează că dinitrofenolul acţionează asupra activităţii nervoase în funcţie de doza şi de tipul de sistem nervos al

animalului, provocînd efecte similare cu ale cafeinei. Sînt interesate în aceeași măsură reflexele condiționate intero- și exteroceptive. Acțiunea dinitrofenolului asupra activității nervoase superioare are un mecanism central și nu unul reflex.

H. D. Schell

780. CARAPANCEA M., SIMIONESCU-CARAPANCEA S., PETRESCU D. și BOROȘ I., *Modificările oculare în șocul acetilcolinic (neparafilactic) și parafilactic.* Studii și cercet. fiziol., 1960, **V**, *1*, 147—152.

Se arată că manifestările oculare experimentale în șocurile amintite sînt consecința șocurilor acetilcolinice locale, ceea ce este dovedit prin faptul că atropina administrată local frînează reactivitatea parasimpatică a celulei efectoare a organului terminal față de acțiunea acetilcolinei.

H. D. Schell

781. FAIBIȘ A. și FAIBIȘ M., *Cercetări privind mecanismul unor modificări hemodinamice provocate de adrenalină în mica circulație.* Studii și cercet. fiziol., 1960, **V**, *1*, 187—202.

Experiențele efectuate pe 43 de cîini arată că adrenalina produce o creștere a presiunii arteriale și venoase în mica circulație, păstrîndu-se un anumit paralelism în raport cu doza. Se arată motivele acestei creșteri a presiunii și se ajunge la concluzia că reglarea circulației din plămîni este independentă de reglarea circulației sistemice.

H. D. Schell

782. MAGHERU A., STERESCU-VOLANSCHI M. și FAUR Y., *Modificările activității nervoase superioare la șobolani albi în urma inoculării intracerebrale de endotoxină pertussis.* Studii și cercet., fiziol., 1960, **V**, *1*, 213—218.

După inocularea intracerebrală a endotoxinei *B. pertussis* la șobolani albi apar modificări ale activității nervoase superioare, care încep în a 8-a zi și se accentuează progresiv, menținîndu-se peste 60 de zile. Aceste modificări constau în scăderea intensității procesului de excitație și ajung la stări fazice sau la inhibiția tuturor reflexelor condiționate. Modificări privitoare la starea generală, temperatură și greutate nu se observă.

H. D. Schell

783. PETRESCU D., SCHIAU S., BOROȘ I., GHIZARI E., DEBĂU M. și STOENESCU R., *Cercetări privind formarea de hemolizine în cadrul răspunsului imun primar la iepurii iradiați cu raze Röentgen.* Studii și cercet. fiziol., 1960, **V**, *1*, 219—227.

O iradiere a 200 γ făcută cu 2 zile înaintea injecției imunizante inhibă în parte formarea de hemolizine, în timp ce iradierea aplicată la 2 sau 6 zile după injecție nu produce nici o modificare în apariția hemolizinelor circulante.

H. D. Schell

784. STERESCU N., GABRIELESCU E. şi BORDEIANU A., *Influenţa efortului fizic asupra dezvoltării guşii experimentale prin antitiroidiene de sinteză.* Studii şi cercet. fiziol., 1960, V, *1*, 247—254.

Experienţele efectuate cu 60 de şobolani au arătat că efortul fizic prin înot determină inhibiţia dezvoltării guşii experimentale prin metiltiouracil. Autorii atribuie acest efect solicitării secretorii a axului hipotalamo-hipofizo-corticosuprarenal şi inhibiţiei secundare a tonusului secretor tireotrop.

H. D. Schell

785. ZUGRĂVESCU I., CONSTANTINESCU C., MOŢOC F. şi CONSTANTINESCU S. *Cercetări biochimice şi histologice asupra unor leziuni hepatice experimentale.* Studii şi cercet. med. int., 1960, I, *1*, 65—79.

Se studiază modificările dehidrogenazelor care participă la ciclul oxibiotic (succinică, malică, citrică şi piruvică) în cursul apariţiei şi dezvoltării distrofiei hepatice experimentale produse de tetraclorura de carbon. Evoluţia tipică a procesului patologic este divizată în patru etape iar leziunea biochimică este mult mai durabilă şi mai evidentă decît leziunea morfologică.

C. Iordache

786. ZAMFIRESCU-GHEORGHIU M., GEORGESCU L., MIRON C. şi MAXIMILIAN Ş., *Contribuţii la studiul histochimic al citocromoxidazei în hepatita toxică experimentală.* Studii şi cercet. med. int., 1960, I, *1*, 81—92.

Se studiază variaţia intensităţii reacţiei histochimice a citocromoxidazei hepatice. Se constată, în general, o scădere a acestei intensităţi în hepatitele toxice provocate prin galben de unt, tetraclorură de carbon şi oleu fosforat. Modificările histochimice sînt însoţite de disproteinemie.

C. Iordache

787. STEINBACH M., IOTA C. G., GOLDSTEIN Z. şi POPESCU D., *Cercetări privind acţiunea aterogenă a adrenalinei. Nota I. Acţiunea disociată asupra vasului şi asupra metabolismului lipidelor.* Studii şi cercet. med. int., 1960, I, *1*, 93—98.

S-a determinat la animale injectate intravenos cu adrenalină $1^0/_{00}$ lipemia, colesterolemia, turbiditatea serului şi raportul β-lipoproteine/α-lipoproteine. Nu s-au constatat modificări semnificative. Se trage concluzia că acţiunea adrenalinei asupra peretelui vascular nu este legată de intervenţia ei în metabolismul lipidelor.

C. Iordache

788. HORNEŢ TH., APPEL E., NEREANŢIU FL. şi VOINESCU S., *Anoxiile cerebrale umane şi experimentale.* Studii şi cercet. neur., 1960, **V**, *1*, 31—43.

Cu ajutorul metodelor histologice şi histochimice autorii constată în anoxiile cerebrale acute (la om, iepuri şi cîini) o serie de modificări, printre care şi fermentative. Fosfatazele dispar din neuroni şi scad sau dispar din neurofile. Unii neuroni hipercromici conţin, dimpotrivă, o mare cantitate de fosfatază. La unele specii de animale suferă modificări fosfatazele alcaline, la altele mai ales fosfatazele acide.

N. Luţă-Moldoveanu

789. STERIADE M. şi CONSTANTINESCU E., *Efectul chinidinei asupra respiraţiei ţesutului cerebral.* Studii şi cercet. neur., 1960, **V**, *1*, 55—61.

Sulfatul de chinidină administrat intravenos la pisică (0,02—0,08 g/kg corp) determină o scădere a valorii medii a consumului de oxigen al ţesutului cerebral. Din punct de vedere statistic, o scădere semnificativă în raport cu normalul ($p < 0{,}01$) este aceea care se înregistrează la substanţa reticulară.

N. Luţă-Moldoveanu

790. BURUIANĂ L. M., GLUHOVSCHI N., VINTILĂ I., BARABAŞ D., HADARAG L. şi NAFORNIŢĂ M., *Cercetări cu privire la influenţa alimentaţiei predominante cu porumb asupra indicilor morfologici şi biologici ai spermei de berbec.* Studii şi cercet. Timişoara, şt. agric., 1959, **VI**, *3—4*, 137—146.

O alimentaţie deficientă în lizină şi triptofan a provocat o necrospermie şi azoospermie, scăderea apreciabilă a rezistenţei spermatozoizilor, o sensibilă micşorare a activităţii dehidrazice a spermei şi creşterea concentraţiei în caroten a acesteia. Activitatea fosfomonoesterazelor nu a suferit modificări semnificative.

H. Filipescu

791. BURDUCEA O., *Tratamentul coccidiozei iepurilor de casă cu sulfatiazol sodic.* Lucr. şt. Inst. S. V. Pasteur Buc., 1958, **III**, 543—545.

Se constată o eficacitate curativă şi preventivă prin administrarea orală a unei soluţii 20%.

D. Tănăsescu

792. PASCU L., ELEFTERESCU A. şi ADAMEŞTEANU C., *Efectele patogene ale hidroxidului de aluminiu inoculat pe cale intracerebrală la iepuri.* Lucr. şt. Inst. S. V. Pasteur Buc., 1958, **III**, 579—584.

S-a constatat că $Al(OH)_3$ (2 mg în 0,3 ml) este un toxic al sistemului nervos central, provocînd o encefalită cu efecte letale la 84% din animale.

D. Tănăsescu

793. POL E., ŞUŢEANU E., SASU V. şi MARINESCU M., *Semnificaţia clinică a eozinogramei în patologia medicală veterinară.* Probl. zoot., vet., 1960, *1*, 45—51.

Gradul de eozinopenie fiind strîns corelat cu gravitatea afecţiunii, autorii recomandă eozinograma ca o metodă rapidă de laborator, accesibilă practicienilor, pentru precizarea prognosticului şi evoluţiei diverselor afecţiuni medicale.

H. Filipescu

794. KOROPOV V. M., SAVOISKI A. G., *Metabolismul hidraţilor de carbon la vacile de mare productivitate.* An. rom.-sov., agr. zoot., 1960, **XIV**, *3*(*55*), 133—140.

Se arată că din cauza alimentaţiei neraţionale şi intensificării măsurilor pentru creşterea producţiei de lapte, fără a se ţine seama de starea fiziologică a organismului, se produc tulburări de metabolism la vacile de mare productivitate şi se studiază dinamica metabolismului hidraţilor de carbon, precum şi conţinutul de zahăr şi glicogen din sînge, la vaci sănătoase şi cu tulburări metabolice, în timpul lactaţiei şi al repausului mamar.

C. Săndulescu

795. FLORESCU S., *Metoda atomilor marcaţi folosită la studierea repartizării fosforului în organele şi ţesuturile iepurilor.* An. rom.-sov., biol., 1960, **XIV**, *1*, 89—96.

Administrîndu-se iepurilor subcutan şi per os ^{32}P (10 m.c/kilocorp) şi cercetîndu-se repartizarea lui după 4 şi 24 de ore de la sacrificarea animalelor, s-a constatat că ^{32}P se găseşte în cantitate mai mare în organele care au o reţea vasculară bogată şi în cantitate redusă în muşchi, în creier şi în măduva spinării. Viteza de distribuire variază cu calea de administrare.

L. Arnet

X. BIOCHIMIE MEDICALĂ

796. BENETATO GR., ZAMFIRESCU N., FELBERG B., STOICULESCU P., GARDEV M., DANIELLO L., LUCACI V., GELEPU E. şi VITEBSCHI, *Studiul dinamicii respiratorii şi nivelului funcţional al centrilor organo-vegetativi superiori la muncitorii expuşi la silicoză.* Studii şi cercet. fiziol., 1960, **V**, *1*, 29—41.

Se constată existenţa a două feluri de reactivităţi imunobiologice la muncitorii cu aceeaşi durată în cîmpul muncii, expuşi la acţiunea prafului de siliciu. Ele coincid cu grade diferite de îmbolnăvire a organismului, fapt ce prezintă interes teoretic şi practic.

H. D. Schell

797. STOICHIȚĂ M. și GHEORGHIU M., *Valoarea testului cu betanaftol în studiul modificărilor calitative ale fibrinogenului.* Studii și cercet. med. int., 1960, **I**, *2*, 213—220.

La 396 de bolnavi cu diferite afecțiuni s-a aplicat testul cu beta-naftol, pentru a pune în evidență fibrinogenul B, care se pare că este una din modificările umorale ce însoțesc infarctul miocardic. Testul cu beta-naftol poate constitui un indiciu al extinderii necrozei tisulare în diverse afecțiuni.

C. Iordache

798. VLĂDESCU R., BĂLĂNESCU I. V., TĂNASE I., POPA L., GEORGESCU C. și VOCHIȚU E., *Protidemia ca test diagnostic și prognostic în tuberculoză.* Studii și cercet. med. int., 1960, **I**, *2*, 235—242.

Diagramele proteinografice obținute prin electroforeză, cromatografia și polarografia acizilor aminați din hidrolizatele proteice din sîngele total. ser și plasmă nu constituie teste prognostice veritabile ale evoluției tuberculozei. Aceste diagrame pot constitui doar indicații de disproteinemie, de care trebuie să se țină seama la prognoza și orientarea tratamentului.

C. Iordache

799. LONGHIN S., ENE-POPESCU C. și TRIFU P., *Reacții vasculare alergice, datorită tutunului.* Dermatovener., 1960, **V**, *2*, 107—118.

Cercetînd alergia la tutun la 72 de fumători fără leziuni vasculare și la 8 fumători cu boli vasculare, autorii constată cu ajutorul testelor efectuate cu extract de tutun o reacție pozitivă la 20% din fumătorii sănătoși și la 100% din fumătorii cu afecțiuni vasculare. Transferul pasiv arată prezența reaginelor specifice. Afecțiunile vasculare condiționate de alergie la tutun apar după 12—25 de ani de fumat, cu predilecție la bărbați și se ameliorează după suspendarea fumatului. Se arată importanța diagnosticării alergiei la tutun în leziunile vasculare incipiente de tipul tromboflebitei superficiale sau migratoare, deoarece permite ca prin suprimarea fumatului să se împiedice apariția vascularitelor de tipul trombangeitelor obliterante, forma cea mai gravă dintre bolile vasculare periferice.

H. D. Schell

800. POPESCU A., PANTEA O. și OLARU V., *Cazuri de porfirie mixtă relevată de nivachin.* Dermatovener., 1960, **V**, *2*, 143—153.

În tratamentul porfiriei cutanate cu antipaludice albe de sinteză, autorii nu observă o acțiune evidentă și sînt de părere să se renunțe la aceste substanțe, deoarece ele pot declanșa și crize acute de porfirie, cu evoluție gravă, uneori letală, în cadrul unor porfirii mixte cu evoluție latentă.

H. D. Schell

801. COLINTINEANU L. şi BIBESCU I., *Dozarea vitaminei A în psoriazis.* Dermatovener., 1960, V, *2*, 167—168.

Dozînd vitamina A după metoda J. Raol şi M. M. Janot, bazată pe reacţia Carr-Price, la 26 de bolnavi în plin puseu de psoriazis, autorii constată la 61,5% din cazuri o hipovitaminoză A şi propun ca, în afară de tratamentele obişnuite care se fac în psoriazis, să se administreze şi doze masive de vitamina A.

H. D. Schell

802. BUŞILĂ V. T., DRAGOMIRESCU M., MAAGER P., *Raportul dintre esterificarea colesterolului şi eliminarea 17-cetosteroizilor în hepatita epidemică.* Med. int., 1960, **XII**, *2*, 209—214.

Pornind de la analogia reacţiilor enzimatice care conduc atît la esterificarea colesterolului, cît şi la conjugarea hormonilor steroizi cu acizii glicuronic şi sulfuric, autorii au pus în evidenţă o pronunţată corelaţie (în 84% din cazurile studiate) între cele două fenomene.

C. Şelariu

803. ŢÎRLEA I., ŢURCANU L., ALEXANDRU E., RADOSLAV I., ELIAS M., SCHNEIDER I., COŢOI P., *Icterele prin galactozemie.* Pediatria, 1960, **IX**, *1*, 45—49.

Se prezintă două cazuri şi se discută printre altele şi patogenia bolii explicată ca o incapacitate de convertire a galactozei în glucoză, din cauza unei insuficienţe enzimatice (uridindifosfogalactotransferază) congenitale.

C. Şelariu

804. MASEVICI T. G., *Studiul electroforetic al proteinelor şi al indicelui de putere peptică al sucului gastric la bolnavii cu boală ulceroasă şi gastrită cronică.* An. rom.-sov., med. gen., 1960, *2*, 73—79.

În boala ulceroasă cresc fracţiunile uşor difuzibile (mucoproteina) şi scad cele încet difuzibile (mucoproteaza). În gastrita hipo- şi anacidă raportul este invers. Indicele de digestie al sucului, atît faţă de albumine cît şi faţă de globuline, este crescut la bolnavii cu boală ulceroasă şi scăzut la cei suferinzi de gastrită hipo- sau anacidă.

D. Moţet-Grigoraş

805. POSLAVSCHI E. V., *Secreția gastrică nocturnă în gastrite și în boala ulceroasă*. An. rom.-sov., med. gen., 1960, *2*, 80—95.

Antibioticele din grupa tetraciclinelor provoacă o eliminare crescută de enterokinază și fosfatază alcalină, prin fecale. Sintomicina, levomicetina și sulfamidele acționează mai puțin în această direcție. Penicilina și streptomicina, administrate parenteral, nu au astfel de efecte. Între acțiunea antibioticelor și a vitaminelor asupra funcției fermentative a colonului există un antagonism, din care cauză în tratamentul cu antibiotice se indică administrarea de complex B și acid ascorbic, pentru scăderea complicațiilor provocate de antibiotice la nivelul intestinului.

D. Moțet-Grigoraș

ŞEDINŢELE CERCULUI DE BIOCHIMIE MEDICALĂ AL SOCIETĂŢII ŞTIINŢELOR MEDICALE ŞI INSTITUTULUI DE BIOCHIMIE AL ACADEMIEI R.P.R.

În ziua de 11 mai 1960, a avut loc în amfiteatrul Institutului de microbiologie şi epidemiologie „Dr. I. Cantacuzino" o şedinţă comună a Cercului de biochimie medicală şi a Secţiei de patologie infecţioasă şi de epidemiologie a filialei Bucureşti a S.S.M. Şedinţa a fost prezidată de academician prof. Eugen Macovschi şi prof. Ion Mesrobeanu, având următoarea ordine de zi:

1. Radu Portocală (Institutul de inframicrobiologie al Academiei R.P.R.):

Acidul ribonucleic, factor al infectivităţii virusurilor

Experienţele din ultimii ani, întreprinse în străinătate (pentru virusurile cu talie mică) şi la noi în ţară, în Institutul de inframicrobiologie al Academiei R.P.R. (pentru virusurile cu talie mare), au arătat că este posibilă separarea în stare pură a acidului ribonucleic inframicrobian. Tehnicile de extragere cu fenol s-au dovedit cele mai eficace. Acidul ribonucleic obţinut pe această cale îşi păstrează integral proprietăţile biologice, dintre care cea mai surprinzătoare este aceea a „infectivităţii": preparatul ribonucleic, inoculat pe produse naturale corespunzătoare (frunze de tutun, ouă embrionate etc.), poate deplasa metabolismul celulei-gazdă în sensul sintetizării particulelor integrale de virus. Corpusculii virali astfel sintetizaţi se dovedesc a fi identici — morfologic, biochimic şi ca virulenţă — cu particulele de virus din care s-a extras preparatul ribonucleic infectant. În cazul virusului gripal, la unele tulpini, corpusculii sintetizaţi ca urmare a infectării prin acid ribonucleic au prezentat unele caractere antigenice distincte faţă de tulpina inframicrobiană din care a fost preparat produsul infectant.

2. Eug. Păunescu (Institutul de ftiziologie):

Date noi în legătură cu mecanismul biochimic al variabilităţii bacteriene

O serie de date din literatura de specialitate permit să se tragă unele concluzii provizorii asupra mecanismului biochimic al variabilităţii bacteriene, şi anume:

a) Substratul biochimic al eredității corespunde unui număr mai larg de structuri macromoleculare celulare, dintre care pentru ADN, ARN și, într-o anumită măsură, chiar pentru proteinele specifice este demonstrabilă capacitatea de a deține informațiile transmisibile ereditar,

b) Sinteza macromoleculelor cu potențial de matrice (inclusiv ADN) este supusă influenței metabolismului celular (și, prin aceasta, influenței anumitor factori de mediu).

c) Prin substituirea în macromoleculele matrice a unor componenți obișnuiți cu analogi structurali sau prin modificarea proporțiilor relative ale metaboliților ce iau parte la polimerizare se provoacă schimbarea structurii matricei, rezultatul final fiind modificarea caracterelor transmise la descendenți.

3. Cella Barber, A. Petrovici, Eugenia Zilișteanu și I. Nafta (Institutul de microbiologie și epidemiologie „Dr. I. Cantacuzino"):

Cercetări asupra haptenelor bacilului anthracis și a localizării lor în celula bacteriană

Prin microfotografii electronice se ilustrează morfologia bacilului cărbunos în diferite faze de extragere a haptenelor polizaharidice și polipeptidice din tulpini mucoide și varianta R.

Germenii tulpinilor mucoide conțin haptene ușor solubile : *a*) un polizaharid solubil în fenol 90%, constituit din galactoză și hexozamine ; *b*) un complex polimerizat de polizaharide cu acid poliglutamic, care este dispersat în toată celula și este ușor de izolat prin solubilizare în apă, consecutivă tratării germenilor cu fenol.

Germenii tulpinilor R, supuși acelorași metode de extracție, nu cedează polizaharide. Acestea au putut fi extrase din celulele din care s-a scos majoritatea conținutului lor, deci din peretele celular (așa cum arată morfologia lor la microscopul electronic), cu ajutorul oricărei metode de separare a polizaharidelor.

În reacțiile de dublă difuziune în gel, polizaharidele tuturor tulpinilor reacționează ca un tip unic, dînd o singură bandă de precipitare, cu toate antiserurile omologe și eterologe.

Acidul poliglutamic, prezent doar în tulpinile mucoide, reacționează numai cu antiserul tulpinilor omologe.

4. Cella Barber, Irina Soare și R. Weinbach (Institutul de microbiologie și epidemiologie „Dr. I. Cantacuzino"):

Asupra unui antigen hemosensibilizant izolat din Hemophillus pertussis

Cu ajutorul unei soluții 2% de desoxicolat de sodiu a putut fi extras din *Hemophillus pertussis* un antigen cu o importantă valoare imunizantă. Antiserul preparat pe iepuri cu acest antigen a arătat, la testul de dublă difuziune în gel de agar, același număr de benzi de precipitare ca și antiserul preparat cu celule bacteriene integrale. Antigenul obținut este un complex de ribo- și desoxiribonucleoproteine și poate sensibiliza cu ușurință hematiile de oaie, tanate și formolate, permițînd urmărirea apariției anticorpilor în serurile antituse-convulsivă.

ŞEDINŢELE CERCULUI DE BIOCHIMIE AL INSTITUTULUI DE BIOCHIMIE AL ACADEMIEI R.P.R. ŞI CATEDREI DE BIOCHIMIE DE LA UNIVERSITATEA „C. I. PARHON"

În ziua de 27 mai 1960 a avut loc la Facultatea de ştiinţe naturale şedinţa prezidată de prof. dr. Al. Ionescu-Matiu, cu următoarea ordine de zi:

L. M. BURUIANĂ, EL. HADARAG, C. DIACONESCU ŞI V. OŢEL (Institutul de medicină veterinară):

Cercetări cu privire la metabolismul energetic al spermei

S-au prezentat unele rezultate ale cercetărilor în legătură cu metabolismul energetic al spermatozoizilor. Conţinutul în fructoză şi aspectul fructolizei pot da indicaţii importante pentru aprecierea calităţii spermei. Se pune în evidenţă un tip particular de fructoliză în sperma de taur; ea se caracterizează prin aceea că degradarea fructozei nu se produce imediat după recoltarea spermei. Se pare că există o legătură între fructoliza tardivă şi capacitatea de conservare a spermei.

Aminoacizii liberi din sperma de berbec variază direct cu concentraţia în fructoză. Faptul prezintă, printre altele, interes practic, deoarece aminoacizii inhibă fructoliza. Dintre aminoacizi, acidul glutamic se găseşte în cea mai mare cantitate, iar triptofanul lipseşte în mod constant.

Fructoliza poate fi deplasată spre aerobioză sau anaerobioză de către extractul pancreatic adăugat în diluantul spermei. Această constatare poate fi utilizată cu succes în prelungirea viabilităţii spermatozoizilor.

V. FRUNZETI (Institutul de biochimie):

Unele probleme în legătură cu prezenţa ureei în plante

Deşi ureea este utilizată din ce în ce mai mult ca îngrăşământ în agricultură, totuşi din cercetarea literaturii rezultă că relaţiile dintre uree şi plante nu sînt încă lămurite.

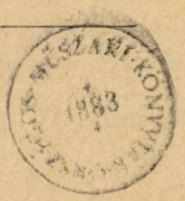
Referatul cuprinde literatura la zi şi o serie de date în legătură cu:

pătrunderea ureei din sol în plante;

biogeneza ureei în plante;

mecanismul biochimic de utilizare a ureei în plante.

De asemenea, sînt menţionate o serie de rezultate obţinute la Institutul de biochimie în problema introducerii ureei în plante de tomate şi salvia prin metoda capilară.



LUCRĂRI APĂRUTE ÎN EDITURA ACADEMIEI R.P.R.

în anul 1960

CHIMIE

J. HEYROVSKI, J. KUTA, **Tratat de polarografie**, 327 p., 14,10 lei.

C. D. NENIŢESCU, I. P. CANTUNIARI, I. G. DINULESCU, **Nomenclatura chimiei anorganice**, 93 p., 3,65 lei.

IONEL HAIDUC, **Introducere în chimia ciclurilor anorganice**, 339 p., 16 lei.

FIZICĂ

ZOLTAN GÁBOS, **Bazele fizicii moderne. Termodinamica fenomenologică**, 319 p., 13,10 lei.

EDMOND NICOLAU, **Propagarea undelor electromagnetice, vol. I. Proprietăţile generale ale undelor electromagnetice**, 312 p., 13 lei.

FR. JOLIOT-CURIE, **Opere alese**, 302 p. + 8 pl., 27,40 lei.

L. DOBRESCU, **Tehnica reactoarelor nucleare**, 549 p. + 9 pl., 28,40 lei.

Din

STUDII ŞI CERCETĂRI DE BIOCHIMIE

au apărut :

anul I, 1958, 4 n-re (a 5 lei);
anul II, 1959, 4 n-re (a 5 lei);
anul III, 1960, 4 n-re (a 5 lei);

Numerele curente se găsesc de vînzare la

LIBRĂRIA ACADEMIEI R.P.R.

Bucureşti, Calea Victoriei nr. 27, sau la orice librărie din ţară.

Se pot comanda şi prin poştă la secţiile „Cartea prin poştă" de pe lîngă Librăria Academiei R.P.R, librăriile principale din reşedinţele de regiune, sau la Librăria republicană

CARTEA PRIN POŞTĂ

Bucureşti, Str. Biserica Enei nr. 16, raionul I. V. Stalin

Abonamentele se fac la oficiile poştale, prin factorii poştali şi difuzorii voluntari din întreprinderi şi instituţii.

Pentru străinătate cererile de numere izolate sau de abonamente se fac prin întreprinderea de stat pentru comerţ exterior „Cartimex" I.S.C.E., str. Aristide Briand nr. 14, sau Căsuţa poştală 134—135, Bucureşti.

I. P. 2. c. 168

Lei 5.—

F 1330

KAT

ACADEMIA REPUBLICII POPULARE ROMÎNE
INSTITUTUL DE BIOCHIMIE

2
ANUL IV
1961

studii şi cercetări de biochimie

EDITURA ACADEMIEI REPUBLICII POPULARE ROMÎNE

F 1330

ACADEMIA REPUBLICII POPULARE ROMÎNE
INSTITUTUL DE BIOCHIMIE

STUDII ŞI CERCETĂRI DE BIOCHIMIE

2

ANUL IV
1961

EDITURA ACADEMIEI REPUBLICII POPULARE ROMÎNE

COMITETUL DE REDACȚIE

ACADEMICIAN E. MACOVSCHI, *redactor responsabil*; ACADEMICIAN R. VLĂDESCU; D. ISĂCESCU, membru corespondent al Academiei R.P.R.; S. OERIU, membru corespondent al Academiei R.P.R.; E. SORU, membru corespondent al Academiei R.P.R.; M. MEZINCESCU; H. SLUȘANSCHI, *redactor adjunct*; I. VASILESCU; V. ALEXANDRESCU, *secretar tehnic de redacție*.

REVISTA STUDII ȘI CERCETĂRI DE BIOCHIMIE

APARE DE 4 ORI PE AN

Redacția : BUCUREȘTI, str. Popovici nr. 20
Telefon 18.43.55—17.79.63

ACADEMIA REPUBLICII POPULARE ROMÎNE
INSTITUTUL DE BIOCHIMIE

STUDII ŞI CERCETĂRI DE BIOCHIMIE

Tomul IV, nr. 2 1961

SUMAR

Pag.

EUGEN MACOVSCHI, CORINA IORDACHE şi CORINA DRAGOMIRESCU, Fosfagenul în diferite stări de activitate şi excitabilitate musculară . . 171

S. OERIU, C. RUSSU şi I. CRUCEANU, Biochimia în biologia vîrstelor. Vitaminele PP, B_1, B_2 şi B_6 în funcţie de vîrsta animalului şi sub acţiunea cisteinei şi a unor vitamine cu rol de metilare şi de metabolizare a sulfului 187

S. OERIU şi M. TIGHECIU, Biochimia în biologia vîrstelor. Glutationul în funcţie de vîrstă şi sub acţiunea cisteinei, a acidului folic şi a vitaminelor B_6 şi B_{12} 191

S. OERIU, M. OANCEA şi ST. BALLIU, Biochimia în biologia vîrstelor. Vitamina B_{12} şi acizii folic şi pantotenic în funcţie de vîrsta animalului şi sub acţiunea cisteinei şi a unor vitamine cu rol de metilare şi de metabolizare a sulfului 195

S. OERIU, O. TEODORESCU şi M. TIGHECIU, Studiul activităţii respiratorii şi dehidrazice la *Mycobacterium tuberculosis H. Ratti* sub acţiunea unor substanţe cu acţiune antituberculoasă 201

C. BODEA, E. NICOARĂ, C. BILAUS şi T. SALONTAI, Asupra caracterelor biochimice ale fructelor unor hibrizi vegetativi de tomate 205

IANCU GONŢEA, S. DUMITRACHE şi PARASCHIVA ŞUŢESCU, Nevoia de proteine a omului în muncă. IV. Mecanismul negativării bilanţului azotat sub influenţa efortului 211

ALEX. BATCU şi ASPAZIA BUSUIOC, Influenţa vitaminelor asupra dinamicii compuşilor fosforaţi ai hematiilor 223

ODETTE ZAHARIA, Accelerarea oxidării glicocolului prin sistemul polifenoloxidazic din floarea-soarelui în prezenţa prolinei 235

VICTOR GHEŢIE şi LUCIA BUZILĂ, Proteinele de rezervă şi proteinele protoplasmatice din sămînţa de fasole (*Phaseolus vulgaris*) 241

DAN MOŢET-GRIGORAŞ, Coacervarea fracţiunilor proteice din serul sangvin uman denaturat prin căldură 257

S. VASU, MIOARA CÂRSTEANU şi CORINA SARMANIOTI, Acţiunea benzedrinei şi medinalului asupra activităţii unor enzime din ţesuturile animale 265

RECENZII 273

CRONICA BIOCHIMIEI DIN R.P.R. 285

EDITURA ACADEMIEI REPUBLICII POPULARE ROMÎNE

ACADÉMIE DE LA RÉPUBLIQUE POPULAIRE ROUMAINE
INSTITUT DE BIOCHIMIE

ÉTUDES ET RECHERCHES DE BIOCHIMIE

Tome IV, nº 2 1961

SOMMAIRE

Page

EUGEN MACOVSCHI, CORINA IORDACHE et CORINA DRAGOMIRESCU, Le phosphagène dans divers états d'activité et excitabilité musculaire . 171

S. OERIU, C. RUSSU and I. CRUCEANU, Biochemistry in the biology of ages. Vitamins PP, B_1, B_2 and B_6 in relation to the age of the animals and upon administration of cysteine and of some vitamins playing a role in the processes of methylation and metabolization of sulphur 187

S. OERIU and M. TIGHECIU, Biochemistry in the biology of ages. Glutathione in relation to age and upon administration of cysteine, folic acid and vitamin B_6 and B_{12} 191

S. OERIU, M. OANCEA and ST. BALLIU, Biochemistry in the biology of ages. Vitamin B_{12}, folic and pantothenic acids in relation to the age of the animals and upon administration of cysteine and of some vitamins playing a role in the processes of methylation and metabolization of sulphur . 195

S. OERIU, O. TEODORESCU and M. TIGHECIU, Study of respiratory and dehydrase activity of *Mycobacterium tuberculosis H. Ralti* in contact with antitubercular substances 201

C. BODEA, E. NICOARĂ, C. BILAUS et T. SALONTAI, Sur les caractères biochimiques des fruits de certains hybrides végétatifs de tomates . . 205

IANCU GONŢEA, S. DUMITRACHE et PARASCHIVA ŞUŢESCU, Le besoin de protéines de l'homme au cours du travail. IV. Mécanisme de la négativation du bilan azoté par suite de l'effort 211

ALEX. BATCU et ASPAZIA BUSUIOC, Influence des vitamines sur la dynamique des composés phosphorés des hématies 223

ODETTE ZAHARIA, Accélération de l'oxydation du glycocolle par le système polyphénoloxydasique de l'hélianthe, en présence de proline 235

VICTOR GHEŢIE et LUCIA BUZILĂ, Les protéines de réserve et les protéines protoplasmiques de la semence de haricot *(Phaseolus vulgaris)* 241

D. MOŢET-GRIGORAŞ, Coacervation des fractions protéiques du sérum sanguin humain dénaturé par la chaleur 257

S. VASU, MIOARA CÂRSTEANU et CORINA SARMANIOTI, Action de la benzédrine et du médinal sur l'activité de certains enzymes des tissus animaux 265

COMPTES RENDUS 273

CHRONIQUE DE LA BIOCHIMIE DANS LA R. P. ROUMAINE 285

ÉDITIONS DE L'ACADÉMIE DE LA RÉPUBLIQUE POPULAIRE ROUMAINE

АКАДЕМИЯ РУМЫНСКОЙ НАРОДНОЙ РЕСПУБЛИКИ
ИНСТИТУТ БИОХИМИИ

ТРУДЫ И ИССЛЕДОВАНИЯ ПО БИОХИМИИ

Том IV, № 2 1961

СОДЕРЖАНИЕ

Стр.

Е. МАКОВСКИ, К. ИОРДАКЕ и К. ДРАГОМИРЕСКУ, Фосфаген на различных стадиях мышечной активности и возбуждаемости 171

С. ОЕРИУ, К. РУССУ и И. КРУЧАНУ, Роль биохимии в возрастной биологии. Витамины PP, B_1, B_2 и B_6 в зависимости от возраста животного, от действия цистеина и некоторых метилирующих и способствующих обмену серы витаминов 187

С. ОЕРИУ и М. ТИГЕЧИУ, Роль биохимии в возрастной биологии. Глутатион в зависимости от возраста и от действия цистеина, фолевой кислоты и витаминов B_6 и B_{12} 191

С. ОЕРИУ, М. ОАНЧА и Ш. БАЛЛИУ, Роль биохимии в возрастной биологии. Витамин B_{12}, фолевая и пантотеновая кислоты в зависимости от возраста животного и от действия цистеина и некоторых метилирующих и способствующих обмену серы витаминов 195

С. ОЕРИУ, О. ТЕОДОРЕСКУ и М. ТИГЕЧИУ, Изучение дыхательной и дегидразной активности Mycobacterium tuberculosis H. Rattі под действием некоторых обладающих противотуберкулезным действием веществ 201

К. БОДЯ, Е. НИКОАРЭ, К. БИЛАУС и Т. САЛОНТАЙ, О биохимической характеристике плодов некоторых вегетативных гибридов томатов 205

ЯНКУ ГОНЦА, С. ДУМИТРАКЕ и ПАРАСКИВА ШУЦЕСКУ, Потребность в белках работающего человека. IV. Механизм негативирования баланса азота в результате усилия 211

АЛЕКС. БАТКУ и АСПАЗИЯ БУСУИОК, Влияние витаминов на динамику фосфорных компонентов гематий 223

ОДЕТТЕ ЗАХАРИЯ, Ускорение окисления гликоколя под действием полифенолоксидазной системы подсолнечника в присутствии пролина 235

ВИКТОР ГЕЦИЕ и ЛУЧИА БУЗИЛЭ, Запасные и протоплазматические белки семян фасоли (Phaseolus vulgaris) 241

Д. МОЦЕТ-ГРИГОРАШ, Коацервация белковых фракций человеческой кровяной сыворотки, денатурированной под действием тепла . . . 257

С. ВАСУ, МИОАРА КЫРСТЯНУ и КОРИНА САРМАНИОТИ, Действие бензедрина и мединала на активность некоторых энзимов ткани животных 265

РЕЦЕНЗИИ 273

ХРОНИКА БИОХИМИИ В РНР 285

ИЗДАТЕЛЬСТВО АКАДЕМИИ РУМЫНСКОЙ НАРОДНОЙ РЕСПУБЛИКИ

FOSFAGENUL ÎN DIFERITE STĂRI DE ACTIVITATE ŞI EXCITABILITATE MUSCULARĂ

DE

ACADEMICIAN EUGEN MACOVSCHI, CORINA IORDACHE şi CORINA DRAGOMIRESCU

Procesele biochimice care stau la baza fenomenelor de excitabilitate musculară încă nu se cunosc. Se ştie numai că datorită unei serii de lucrări apărute mai ales în perioada dintre 1920—1935 s-a ajuns la constatarea unor relaţii între excitabilitatea musculară şi fosfagen. Aşa de exemplu P. Eggleton şi G. P. Eggleton [1] au stabilit că la broască muşchii striaţi conţin o cantitate mai mare de fosfagen decît muşchii netezi ai stomacului. G. Martino [2] a găsit că muşchii striaţi conţin cu atît mai mult fosfagen cu cît se contractă mai repede, dînd ca exemplu bicepsul femoral de iepure — muşchi rapid, care e mai bogat în fosfagen decît muşchiul soleus — muşchi lent. D. Nachmansohn [3], [4], [5] şi O. Meyerhof [6] au precizat că muşchii diferitelor animale sînt cu atît mai excitabili cu cît au mai mult fosfagen; că descompunerea fosfagenului în decursul efectuării unui anumit efort este cu atît mai mare cu cît excitabilitatea unui muşchi este mai mare; că scăderea excitabilităţii unui muşchi provocată prin coborîrea temperaturii sau prin acţiunea substanţelor curarizante duce la micşorarea degradării fosfagenului în cadrul unui efort dat etc. Astfel, după D. Nachmansohn: „Gradul scindării fosfagenului depinde de viteza procesului de excitaţie măsurată prin cronaxie" [5] (pag. 263), iar după O. Meyerhof: „...viteza procesului de excitaţie depinde într-un fel sau altul de gradul de descompunere a acidului creatinfosforic şi, după cum se poate admite, este determinată de acesta", precum şi: „...degradarea fosfagenului stă în strînsă legătură cu cronaxia musculară, adică cu viteza răspunsului la excitaţie" [6] (pag. 286). P. Bordi [7] a exprimat părerea că scindarea fosfagenului din muşchi este însoţită de o creştere a cronaxiei; J. Renqvist şi C. E. Raïhä [8] au susţinut că există o legătură directă între constanta de echilibru a reacţiei de descompunere a acidului creatinfosforic şi iritabilitatea muşchiului

gastrocnemian de broască; M. A. Palladin şi P. Sigalova [9] au arătat că nivelul fosfagenului în diferiţi muşchi este legat de gradul lor de excitabilitate; V. A. Muzheiev [10] a constatat că iritabilitatea muşchilor striaţi depinde de viteza metabolizării fosfagenului etc.

Cele mai importante dintre aceste cercetări au fost efectuate în condiţii care se deosebesc profund de condiţiile normale în care funcţionează muşchii unui organism viu. Într-adevăr, s-a lucrat pe muşchi izolaţi, deci fără conexiune circulatorie şi nervoasă cu întregul organism (D. Nachmansohn, O. Meyerhof, P. Bordi şi alţii); pentru excitaţie s-a folosit curentul electric foarte puternic forţînd muşchiul la eforturi exagerate de cîteva kg care depăşesc cu mult eforturile normale (D. Nachmansohn), iar excitabilitatea a fost măsurată cu ajutorul metodei cronaximetrice criticată de diferiţi autori, de ex. D. N. Nasonov şi D. L. Rozental [11], [12], arătîndu-se că variaţiile cronaxiei nu reprezintă variaţiile excitabilităţii decît în anumite condiţii experimentale bine determinate. De aceea, am considerat necesară reluarea investigaţiilor în acest domeniu important, dar în condiţiile cît mai apropiate de acelea în care se desfăşoară curent activitatea musculară şi respectînd în determinările cronaximetrice condiţiile preconizate de D. N. Nasonov şi D. L. Rozental.

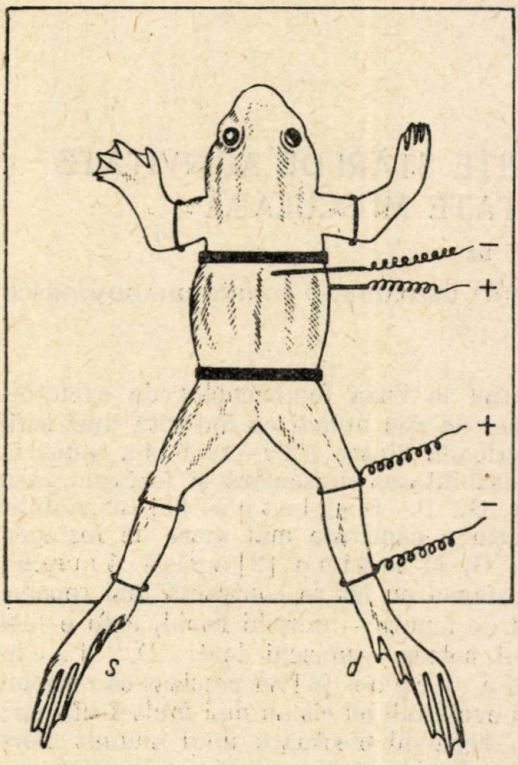


Fig. 1

În consecinţă, am lucrat pe broasca întreagă, fără a fi spinalizată sau decapitată şi asupra căreia nu s-a acţionat cu nici un agent fizic sau chimic. Broasca se imobiliza pe o placă de lemn prin legarea labelor şi toracelui de placa de lemn (fig. 1) iar picioarele rămîneau libere pentru a putea executa în voie mişcările provocate de excitaţii. Am experimentat pe piciorul drept, cel stîng, legat la nevoie de placă, servind ca martor. Toate legăturile se făceau cu elastic în aşa fel încît imobilizau animalul fără a-i dăuna. Paralel cu cercetările pe organismul întreg, am lucrat pe muşchi izolaţi şi pe preparate neuromusculare, folosind muşchii simetrici de la acelaşi animal, cel de la piciorul stîng servindu-ne ca martor. Toată lucrarea a fost efectuată pe muşchii gastrocnemieni ai broaştelor

(*Rana ridibunda*) capturate în jurul Bucureştiului în perioada aprilie-decembrie 1960, cercetările fiind executate la temperatura camerei (în jur de + 20°C) pe loturi de cîte 10—15 broaşte. În tabelele acestei lucrări sînt date spre exemplificare, numai cîte 2—3 din rezultatele obţinute, dat fiind că toate determinările dintr-o serie ne dădeau rezultate similare.

Pentru excitaţia directă electrozii din fir de argint, cloruraţi, se înfăşurau direct pe piciorul drept, la nivelul extremităţilor muşchiului gastrocnemian. Pentru excitaţia indirectă electrozii de argint cloruraţi se plasau unul pe partea ventrală şi celălalt pe partea dorsală a animalului. Excitaţiile se realizau cu ajutorul trenului de impulsuri rectangulare al cronaximetrului de tip „Tu R" RS 3 (R.D.G.) timp de 10 min cu un ritm de 60 imp/min, intensitatea curentului fiind de 5—6 mA. Alegerea numărului de 600 impulsuri în 10 min s-a făcut pe baza constatării că provoacă modificări de fosfagen comparabile cu cele constatate de D. Nachmansohn în condiţiile de izometrie. Rezultate similare le-am putut obţine şi cu 120 impulsuri. De altfel, comportarea muşchiului gastrocnemian *in situ* în funcţie de numărul de impulsuri va forma obiectul unei alte lucrări. Pentru curarizare se injecta în sacul dorsal al broaştei 1 ml soluţie de flaxedil (Gallamine triiodoethylate, Specia, Paris)*) $2^0/_{00}$ se experimenta după o oră cînd relaxarea era profundă şi efectul de redresare complet suprimat. Denervarea se făcea prin secţionarea nervului sciatic de la piciorul stîng cu 24 ore înainte de experimentare.

Imediat după experimentare, se tăiau ambele picioare şi se aruncau în azot lichid. În cazul cercetărilor pe animale întregi în repaus şi excitate indirect, de la tăierea picioarelor pînă la îngheţarea lor treceau maxim 1—3 s; în cazul muşchilor izolaţi şi a preparatelor neuromusculare, timpul acesta era de 1—2 s; numai în cazul excitaţiei electrice directe sau al experienţelor care necesitau imobilizarea picioarelor prin legare acest interval de timp ajungea pînă la 5—10 s. După îngheţare, se îndepărta pielea şi se scotea de la tendon la tendon muşchiul gastrocnemian îngheţat.

Dozarea fosfagenului am efectuat-o în general conform indicaţiilor date de D. Nachmansohn [3] (pag. 75) după metoda lui C. H. Fiske şi Y. Subbarow [14] şi K. Lohmann [15]. Se ştie că această metodă nu este ideală. Astfel, H. Weil-Malherbe şi R. H. Greene [16] au arătat că ea nu este specifică deoarece şi alţi fosfaţi organici prezenţi în extract pot fi hidrolizaţi în prezenţa molibdatului; după A. M. Alexeeva [17], pe lîngă acest defect, metoda prezintă dezavantajul prin faptul că 10 min de extracţie pot să nu ajungă pentru extragerea totală a fosfocreatinei, iar în timpul extracţiei poate avea loc o scindare pînă la 5% din creatinfosfat etc. Dat fiind că cele mai importante lucrări cu privire la relaţiile dintre excitabilitatea musculară şi fosfagen se datoresc lui D. Nachmansohn şi în consecinţă, efectuarea cercetărilor pe muşchii *in situ* necesita comparaţia rezultatelor cu cele obţinute de acest autor, era indicat să aplicăm nu numai metoda de dozare a fosfagenului folosită de el, cu toate imperfecţiunile ei, dar

*) Flaxedilul are o activitate comparabilă cu aceea a d-tubocurarinei, nu are activitate anticolinesterazică şi nu modifică presiunea sangvină [13].

și să exprimăm rezultatele în același fel. Chiar dacă metoda C. H. Fiske și Y. Subbarow și K. Lohmann nu dă pentru fosfagen valori absolute, totuși diferențele nu pot fi mari deoarece erorile care se comit nu sînt exagerate și în parte se compensează. Într-adevăr, cantitatea fosfaților organici hidrolizabili în extract muscular, comparativ cu aceea a fosfagenului este mică (erorile în plus), iar cantitatea de fosfagen care se hidrolizează în cursul extracției nu este prea mare (erorile în minus) și poate fi micșorată prin procedeul preconizat de A. Palladin și D. Ferdman [18], procedeu pe care l-am aplicat și noi. Totodată, ținem să precizăm că cercetările noastre nu implicau obținerea valorilor absolute pentru fosfagen, rezumîndu-se la o apreciere comparativă a diferențelor dintre datele analitice obținute prin aceeași metodă.

Cum D. Nachmansohn nu a descris în lucrările sale tehnica de dozare a fosfagenului, am considerat util să redăm aici modul cum am lucrat. Mușchiul gastrocnemian înghețat în azot lichid, se cîntărea rapid și se mojara fin în mojare răcite la 0°C, adăugîndu-se apoi 10 ml acid tricloracetic rece 5%. Extracția dura 10 min la frigider. După filtrare prin pîlnia răcită, se luau din filtrat probe de cîte 2,5 ml pentru dozarea „fosforului determinabil direct" (Bestimmbaren Phosphat) [15] și „fosforului anorganic real" („Wahren" anorganischen Phosphat) [15]. Fosforul fosfagenului se afla prin diferență.

Dozarea „fosforului determinabil direct" necesita hidroliza catalitică prealabilă a fosfagenului. În acest scop, cei 2,5 ml extract se neutralizau rapid în prezența unei picături de soluție alcoolică a fenolftaleinei cu amoniac 10% (conform indicațiilor date de A. Palladin și D. Ferdman [18]), se adăugau 5 ml molibdat de amoniu 2,5% în acid sulfuric 5 N și amestecul se lăsa în baia de apă la 37°C timp de 30 min. Apoi, se adăuga 1 ml eikonogen (acid 1-2.4 aminonaftolsulfonic p. a. FLUKA-Switzerland) preparat după rețeta dată de C. H. Fiske și Y. Subbarow [14] respectiv K. Lohmann și L. Jendrassik [19], se aducea la 25 ml cu apă distilată și se lăsa 10 min la 37°C pentru dezvoltarea culorii. După răcire la temperatura camerei, se colorimetra la un fotocolorimetru tip FEK (U.R.S.S.) cu filtru roșu. Citirile în mg P_2O_5 se făceau după o curbă etalon, iar cantitatea obținută se raporta la 1 g mușchi proaspăt.

Dozarea „fosforului anorganic real" s-a făcut în condițiile care împiedicau hidroliza fosfagenului, prin precipitare sub formă de fosfat de amoniu și magneziu. În acest scop, la cei 2,5 ml extract se adăugau 1 ml amoniac 10% și 2 ml reactiv magneziano-citric al lui Mathison preparat după rețeta dată de A. Palladin și D. Ferdman [18]. După 24 ore se centrifuga 30 min la 3 000 ture, precipitatul se spăla cu amoniac 1%, se centrifuga din nou 30 min la 3 000 ture și precipitatul se dizolva în 5 ml molibdat de amoniu 2,5% în acid sulfuric 5 N. Se adăuga 1 ml eikonogen, se completa cu apă distilată la 25 ml, se lăsa 10 min la 37°C, și după răcire la temperatura camerei se colorimetra ca mai sus. Prin scăderea valorii „fosforului anorganic real" din aceea a „fosforului determinabil direct" se obținea fosforul fosfagenului exprimat în mg P_2O_5 și se raporta la 1 g mușchi proaspăt. Valoarea obținută se raporta apoi

la aceea a „fosforului determinabil direct" şi se exprima în procente faţă de acesta din urmă.

Cronaxia am determinat-o cu ajutorul cronaximetrului menţionat mai sus. Aparatul fiind destinat scopurilor clinice, a fost adaptat pentru cercetări pe broaşte prin conectarea la bornele de ieşire ale aparatului a unui sistem de rezistenţe (fig. 2). Electrozii au fost confecţionaţi din sîrmă de argint cu diametrul de 0,5 mm, cloruraţi prin electroliza unei

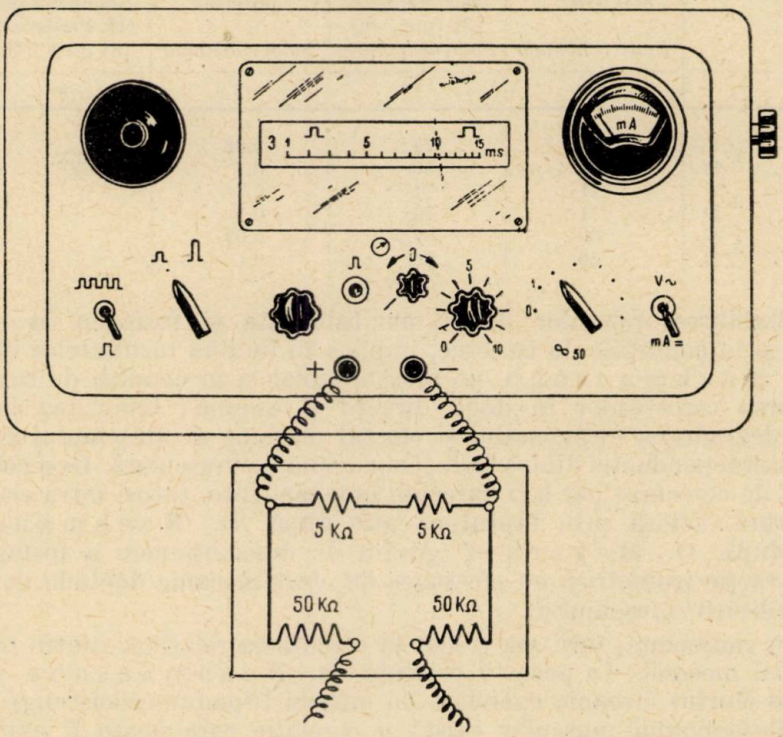


Fig. 2

soluţii de clorură de sodiu timp de 10—15 min, cu un curent de acumulatori de 2 V [20].

Înainte de a trece la cercetări, am verificat pe muşchi izolaţi dacă dozările de fosfagen muscular efectuate prin metoda descrisă mai sus, dau valori corespunzătoare ca ordin de mărime cu cele obţinute de D. Nachmansohn, dacă valorile ce se obţin pentru fosfagen pe muşchii simetrici ai aceluiaşi animal sînt concordante între ele şi dacă determinările de cronaxie efectuate cu aparatura folosită de noi corespund ca ordin de mărime cu valorile cronaxiei din lucrările lui D. Nachmansohn determinate cu aparatura clasică preconizată de L. Lapicque. După cum se constată din tabela 1, corespondenţa şi concordanţa e bună, mai ales dacă ţinem seama de faptul cunoscut că fosfagenul muscular prezintă variaţii individuale mari.

Tabela 1

Valorile normale ale fosfagenului și cronaxiei mușchiului gastrocnemian izolat de broască, obținute prin cercetările descrise în această lucrare, comparativ cu cele publicate de D. Nachmansohn în 1928
S — mușchiul stîng; D — mușchiul drept

Nr. crt.		Fosfagen în P_2O_5 mg%		Cronaxia în ms	
		Determinările noastre *Rana ridibunda*	După D. Nachmansohn [3] (pag. 76) *Rana temporaria*	Determinările noastre *Rana ridibunda*	După D. Nachmansohn (H. Fredericq) [5] (pag. 276]
1		2	3	4	5
1	S	70	79,5	0,08	0,3
	D	71	80	0,1	
2	S	71	74	0,1	—
	D	71	76	0,1	
3	S	60	67,5	0,09	—
	D	59	65	0,1	

Stabilirea relațiilor dintre excitabilitate și fosfagen la mușchii *in situ* și în condițiile de izotonie, implica în lumina rezultatelor obținute de D. Nachmansohn pe mușchi izolat și în condiții de izometrie, efectuarea cercetărilor în două direcții și anume: lămurirea legăturii dintre degradarea fosfagenului și efortul mecanic al mușchiului și lămurirea interdependenței dintre fosfagen și cronaxia musculară. Deși cele două direcții de cercetare par a fi oarecum independente, totuși între ele există o legătură strînsă prin faptul că atît după D. Nachmansohn, cît și după O. Meyerhof gradul de descompunere a fosfagenului în contracție izometrică cu efectuare de efort mecanic depinde de starea excitabilității mușchiului.

În consecință, întîi am trecut la cercetarea relațiilor dintre fosfagen și efortul mecanic. În această privință D. Nachmansohn susține că între efortul mecanic exercitat de mușchi (Spannungsleistung) și scăderea fosfagenului muscular există o corelație care poate fi exprimată prin coeficienții K_m și K_z, coeficientul izometric K_m fiind valabil în cazul secuzelor repetate (Einzelzuckungen) iar coeficientul izometric K_z — în cazul excitației tetanice

$$K_m = \frac{e \cdot m}{F}, \qquad K_z = \frac{e \cdot m \cdot t}{F}.$$

În calculul acestor coeficienți intervine efortul mecanic „e" exprimat în kg, depus de mușchi în timpul „t" al excitației exprimată în secunde, lungimea „m" a mușchiului exprimată în cm și cantitatea de fosfagen „F" descompusă în urma efortului mecanic efectuat de mușchi exprimată în mg acid fosforic [3] (pag. 77, 79, 82).

Formulele de mai sus arată că, după D. Nachmansohn, pentru același mușchi și pentru același timp „t", adică pentru m = const.

şi t = const., cantitatea de fosfagen descompus „F" variază în funcţie de efortul mecanic „e"

$$F = \frac{m}{K_m} \cdot e, \quad F = \frac{mt}{K_z} \cdot e.$$

Dacă într-adevăr intensitatea descompunerii fosfagenului depinde de efortul mecanic depus de muşchi, era de aşteptat, conform formulelor de mai sus, ca atunci cînd „e" este egal cu 0, adică muşchiul excitat nu depune nici un efort mecanic, valoarea fosfagenului să fie şi ea egală

Tabela 2

Fosfagenul muşchiului gastrocnemian de broască (*Rana ridibunda*) supus *in situ* şi izolat excitaţiilor electrice directe, fără exercitarea efortului mecanic (exprimat în P_2O_5 mg%)

S — muşchiul stîng — martor; D — muşchiul drept — excitat

Nr. crt.		Muşchii *in situ*			Muşchi izolat	După D. Nachmansohn [3] (p. 79)		
						Muşchi izolat de *Rana temporaria*. Contracţie izometrică		
		S liber D liber 600 excitaţii în 10 min	S liber D legat 600 excitaţii în 10 min	S liber D legat 120 excitaţii în 2 min	— 600 excitaţii în 10 min	Fosfagen	Numărul excitaţiilor	Efortul mecanic kg
1		2	3	4	5	6	7	8
1	S	42	46	49,5	68	70	—	—
	D	25	25	22	37	39	42	21
2	S	41	45	43	58	65	—	—
	D	11	16	23	26	17	88	47
3	S	37	62	58	66	—	—	—
	D	17,5	31	25	12			

cu 0, adică fosfagenul să nu se descompună de loc. De aceea, am efectuat o serie de măsurători pe muşchiul *in situ*, în condiţii de izotonie şi fără încărcare, aplicînd excitaţia electrică directă timp de 10 min (tabela 2, col. 2). Am constatat că deşi muşchiul excitat n-a efectuat practic nici un efort mecanic, totuşi, contrar aşteptării, prezenta o scădere considerabilă a fosfagenului în comparaţie cu muşchiul simetric neexcitat. Este interesant că în urma acestei scăderi, fosfagenul din muşchiul excitat în experienţele noastre ajunge aproximativ la acelaşi nivel ca în cercetările lui D. Nachmansohn efectuate pe muşchii care, în condiţii de izometrie, au depus eforturi mecanice cuprinse între 21 şi 166 kg (tabela 2, col. 6).

Cum în aceste experienţe ale lui D. Nachmansohn muşchiul era supus unei contracţii izometrice care nu permitea scurtarea lui, dar în schimb condiţiona dezvoltarea unei tensiuni interne foarte puternice care îi permitea să producă efortul mecanic, s-ar putea bănui că în experienţele noastre în locul acestei „tensiuni interne puternice" provocate de excitaţie, mişcările „în gol" (adică fără încărcare) ale piciorului ar fi acelea care au determinat scăderea de fosfagen. În consecinţă, am efectuat cîteva determinări procedînd ca şi mai înainte, dar împiedicînd miş-

cările piciorului supus excitației electrice directe prin legarea lui de placa de lemn ce susține animalul. Dar și în acest caz am constatat aceeași scădere de fosfagen în mușchiul excitat (tabela 2, col. 3 și 4) fie că mușchiul primea 600 impulsuri în 10 min, fie numai 120 impulsuri în decurs de 2 min. Este evident că excitația mușchiului legat provoacă în el o anumită „tensiune"; cum însă curentul folosit de noi pentru excitație a fost incomparabil mai slab decît cel folosit de D. Nachmansohn, rezultă că în aceste experiențe ale noastre „tensiunea" a fost foarte mică și în nici un caz nu ar fi putut condiționa eforturi mecanice de zeci de kilograme. De aceea, ajungem la concluzia că scindarea fosfagenului în excitația electrică directă a mușchiului *in situ*, atît în condiții de izotonie fără încărcare, cît și în condiții de izometrie fără încărcare realizate prin imobilizarea piciorului, nu depinde de efortul mecanic, deoarece se produce și atunci cînd un asemenea efort nu este exercitat de mușchi.

Cu toate acestea, nu era exclus ca discordanța dintre constatările noastre și acelea ale lui D. Nachmansohn cu privire la rolul fosfagenului în efortul mecanic muscular să se datoreze faptului că noi am lucrat pe mușchiul *in situ* și nu pe mușchi izolat. De aceea, am executat o serie de măsurători pe mușchi izolat, în condiții de izotonie și fără încărcare, dar și de data aceasta am constatat o scădere a fosfagenului (tabela 2, col. 5) asemănătoare cu aceea obținută de D. Nachmansohn în izometrie și cu eforturi mecanice mari. Înseamnă că și în cercetările efectuate de acest autor, scăderea fosfagenului observată în contracția izometrică a mușchiului izolat nu se datorește efortului mecanic făcut de mușchi, ci acelorași cauze care determină scăderea fosfagenului în experiențele noastre efectuate în condiții de izotonie și fără efort mecanic. Doar este puțin probabil ca relațiile dintre descompunerea fosfagenului și efortul mecanic al mușchiului respectiv, stabilite de D. Nachmansohn și exprimate prin coeficienții K_m și K_z să fie valabile numai pentru contracții izometrice ale mușchiului izolat.

Prin urmare, descompunerea fosfagenului nu este condiționată de efortul mecanic exercitat de mușchi.

Examinarea datelor din tabela 2 mai arată că nivelul inițial al fosfagenului din mușchiul *in situ* (experiențele noastre, col. 2, 3, 4) era considerabil mai jos decît nivelul inițial al fosfagenului în mușchi izolat (exp. noastre, col. 5, și exp. lui D. Nachmansohn, col. 6). Această deosebire are o semnificație interesantă și vom reveni asupra ei într-o altă lucrare.

O dată stabilit efectul excitației electrice directe asupra comportării fosfagenului muscular, era interesant de constatat comportarea acestei substanțe în cazul excitațiilor indirecte. În acest scop am recurs la excitarea indirectă, prin aplicarea unui electrod pe partea ventrală și a celuilalt pe partea dorsală a trunchiului corpului animalului. Este evident că impulsurile nervoase provocate în felul acesta acționau simultan asupra ambilor mușchi gastrocnemieni ai animalului, dîndu-ne posibilitatea să comparăm comportarea fosfagenului piciorului stîng (legat) cu aceea a piciorului drept, lăsat să se miște liber. După cum rezultă din tabela 3, col. 2, excitația electrică indirectă provoacă o puternică

scădere a fosfagenului la ambii mușchi, indiferent dacă piciorul respectiv a executat sau nu mișcări provocate de excitație. În astfel de determinări însă, era important de comparat fosfagenul mușchiului excitat indirect cu acela al mușchiului simetric care nu a primit nici o excitație. Aceasta se putea realiza prin secționarea unuia dintre nervii sciatici. Efectuînd experiențe în acest fel (tabela 3, col. 3) am constatat că pe cînd mușchiul cu nervul secționat menține valorile ridicate de fosfagen asemănătoare

Tabela 3

Fosfagenul mușchiului gastrocnemian de broască (*Rana ridibunda*) supus *in situ* şi ca preparat neuromuscular excitațiilor indirecte, fără exercitare de efort mecanic (exprimat în P_2O_5 mg%)

S — mușchiul sting — martor, legat. D — mușchiul drept — excitat, liber.

Nr. crt.		Mușchi *in situ*		Preparat neuromuscular
		Normal	24 ore după secționarea nervului sciatic sting	
1	2	3	4	
1	S	19	73	67
	D	16	39	36
2	S	21	70	59
	D	29	40	23
3	S	26	64	61,5
	D	18	50	22

celor din mușchii izolați (v. tabela 2, col. 5 și 6), mușchiul excitat indirect prezintă o scădere apreciabilă a fosfagenului. Aceleași constatări le-am făcut și în cazul excitației indirecte efectuate pe preparate neuromusculare, în care mușchiul supus excitațiilor se contracta liber, deci fără efort mecanic, iar ca martor servea mușchiul simetric al aceluiași animal, tot ca preparat neuromuscular, dar care nu se supunea excitațiilor (tabela 3, col. 4).

Menționăm că și D. Nachmansohn a urmărit scindarea fosfagenului pe preparat neuromuscular, în excitație indirectă, dar în tetanos și în condiții de izometrie, forțînd mușchiul să efectueze eforturi mari [3] (pag. 83); cantitatea de fosfagen descompusă, raportată la 1 g mușchi și exprimată în mg P_2O_5 a fost însă de același ordin de mărime pe care l-am constatat în experiențele noastre izotonice și fără efort efectuate de asemenea pe preparatul neuromuscular (tabela 4, col. 3 și 5). Rezultă că excitația indirectă se repercutează asupra fosfagenului muscular în același fel ca și în excitația electrică directă, provocînd scăderea lui apreciabilă. Totodată, se confirmă și pe experiențe de acest gen, că descompunerea fosfagenului nu este condiționată de efortul mecanic exercitat de mușchi.

De altfel, faptul că contracțiile musculare provocate prin excitații de natură diferită sînt însoțite de scăderea fosfagenului a fost semnalat de mai mulți autori, ca de exemplu de A. Yuichi [21], după care fosfocreatina scade în timpul contracției izometrice, de G. Lange

[22] care a cercetat scăderea fosfagenului în contracția musculară produsă prin acetilcolină, clorură de potasiu, curent electric și de alții.

Trecînd acum la cercetarea interdependenței dintre fosfagen și cronaxia musculară, am luat ca punct de plecare pe de-o parte afirmația lui D. Nachmansohn că „în general se poate recunoaște existența unui anumit paralelism între conținutul în fosfagen și valoarea cronaxiei" [5] (pag. 275) bazată pe cercetarea conținutului de fosfagen în mușchii dife-

Tabela 4

Fosfagenul mușchiului gastrocnemian de broască (*Rana ridibunda*) din preparatul neuromuscular supus excitațiilor indirecte, fără exercitare de efort mecanic

S — mușchiul sting — martor; D — mușchiul drept — excitat

Nr. crt.	Secuse izotonice fără efort mecanic 600 excitații în 10 min			După D. Nachmansohn [3] (p. 83) Contracție izometrică cu efort mecanic 1 tetanos de 5 s *Rana temporaria*	
	Conținutul în fosfagen (în mg P_2O_5 la 1 g mușchi)	Fosfagen scindat S—D (în mg P_2O_5 la 1 g mușchi)	Efort mecanic kg s.	Fosfagen scindat (mg P_2O_5 la 1 g mușchi)	Efort mecanic kg s
1	2	3	4	5	6
1 S	1,17	0,58	0	0,64	7,4
1 D	0,59				
2 S	0,91	0,64	0	0,51	7,3
2 D	0,27				

ritelor animale și pe diferiți mușchi ai aceluiași animal, iar pe de altă parte constatarea lui P. Bordi că „cronaxia crește paralel cu scindarea fosfagenului din mușchi și scade paralel cu resinteza lui" [7] (pag. 772), bazată pe cercetarea mușchilor izolați introduși în diferite soluții. Din aceste afirmații se poate deduce că modificările în conținutul de fosfagen al mușchilor ar trebui să fie însoțite de modificări ale excitabilității și invers, modificările excitabilității ar urma să fie însoțite de schimbări ale conținutului de fosfagen.

Prima concluzie am încercat să o verificăm pe mușchii supuși excitației, deoarece ar urma ca scăderea fosfagenului provocată de excitație să condiționeze o scădere a excitabilității și prin urmare o creștere a cronaxiei. De aceea, am determinat cronaxia mușchiului gastrocnemian, înainte și imediat după excitația directă și indirectă, lucrînd atît pe mușchiul izolat cît și pe mușchiul *in situ*. Rezultatele obținute, puse alături de valorile de fosfagen determinate în aceleași condiții, dar pe mușchii altor broaște, arată limpede că, deși în urma excitării fosfagenul muscular scade puternic, totuși, cronaxia nu prezintă modificări importante. Cum în cele mai multe dintre determinări (cu excepția experiențelor de excitare directă a mușchiului izolat) nu numai cronaxia, dar și reobaza rămîne practic constantă, înseamnă că în aceste experiențe nici excitabilitatea nu suferă modificări. Într-adevăr, după D. N. Nasonov și D. L. Ro-

zental [11], [12] variaţiile cronaxiei numai atunci corespund cu variaţiile de excitabilitate, cînd reobaza rămîne constantă. Rezultă că la unul şi acelaşi muşchi variaţia fosfagenului nu implică modificări de excitabilitate măsurate prin cronaxie.

A doua concluzie am încercat să o verificăm pe muşchi curarizaţi, deoarece ar urma ca scăderea excitabilităţii provocată de curarizare să condiţioneze o scădere a fosfagenului. De aceea, am determinat fosfagenul

Tabela 5

Cronaxia şi fosfagenul muşchilor gastrocnemieni de broască (*Rana ridibunda*) normali, *in situ* şi izolaţi, supuşi excitaţiilor electrice directe şi excitaţiilor indirecte 600 excitaţii în 10 min

S — muşchi sting — martor; D — muşchi drept — excitat; A — înainte de excitaţie; B — după 10 min de excitaţie; R — reobaza în mA; C — cronaxia în ms; F — fosfagenul în P_2O_5 mg%

Nr. crt.			Muşchi *in situ*						Muşchi izolat					
			Excitaţie directă			Excitaţie indirectă			Excitaţie directă			Excitaţie indirectă		
			R	C	F	R	C	F	R	C	F	R	C	F
1	S	A	—	—	41	—	—	—	—	—	48	—	—	67
		B	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	D	A	2,0	0,13	—	2,6	0,15	—	1,5	0,05	—	1,4	0,09	—
		B	2,8	0,18	21	3,2	0,18	29	5,2	0,11	16	1,5	0,14	36
2	S	A	—	—	55	—	—	—	—	—	66	—	—	58
		B	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	D	A	2,7	0,13	—	2,6	0,22	—	1,3	0,08	—	1,0	0,12	—
		B	3,0	0,16	11	2,5	0,22	16	5,9	0,13	29	1,4	0,12	23

din muşchiul gastrocnemian al broaştelor normale şi al celor curarizate cu flaxedil (după o oră de curarizare) lucrînd atît pe muşchiul *in situ*, cît şi pe muşchiul izolat. În paralel am determinat cronaxia. Datele obţinute (tabela 6) dovedesc că creşterea puternică a cronaxiei provocată de curarizare nu este însoţită de modificări în conţinutul de fosfagen. Prin urmare, la unul şi acelaşi muşchi modificarea cronaxiei nu implică modificări în nivelul fosfagenului.

Tabela 6

Cronaxia şi fosfagenul muşchilor gastrocnemieni de broaşte (*Rana ridibunda*) normali şi curarizaţi, *in situ* şi izolaţi

R — reobaza în mA C — cronaxia în ms F — fosfagenul în P_2O_5 mg%

Nr. crt.	Muşchi normali						1 oră după curarizare					
	Muşchi *in situ*			Muşchi izolat			Muşchi *in situ*			Muşchi izolat		
	R	C	F	R	C	F	R	C	F	R	C	F
1	2,8	0,28	42	1,5	0,05	70	3,5	4,5	77	4	> 5	80
2	2,7	0,13	37	1,5	0,08	71	3,6	4,2	79	2,5	> 5	73

Din moment ce între nivelul fosfagenului şi gradul de excitabilitate al unuia şi acelaşi muşchi nu există interdependenţă, cele două mărimi putînd să se modifice independent una de alta, a rămas de lămurit legătura dintre gradul de descompunere a fosfagenului şi excitabilitatea musculară. În această privinţă, s-a afirmat că cronaxia musculară, adică „viteza procesului de excitaţie depinde într-un fel sau altul de gradul de descompunere a acidului creatinfosforic şi, după cum se poate admite, este determinată de acesta" (O. Meyerhof [6] (pag. 286), şi că „gradul scindării fosfagenului depinde de viteza procesului de excitaţie măsurată prin cronaxie" (D. Nachmansohn [5], pag. 263). Aceste afirmaţii se bazează pe cercetările efectuate de D. Nachmansohn pe muşchi izolat în condiţii de izometrie şi cu exercitare de efort mecanic atît în contracţii singulare, cît şi în tetanos, comparînd comportarea muşchilor normali şi a celor curarizaţi şi pe deducţia lui că, în cadrul aceluiaşi efort mecanic în muşchii curarizaţi, gradul de descompunere al fosfagenului este mai mic decît în muşchii normali. Această concluzie că gradul de descompunere al fosfagenului muscular depinde simultan nu numai de efortul mecanic efectuat, dar totodată şi de gradul lui de excitabilitate, pare a fi destul de curioasă în lumina constatărilor noastre că descompunerea fosfagenului nu depinde nici de efortul mecanic exercitat de muşchi şi nici de gradul lui de excitabilitate. Dacă într-adevăr situaţia se prezintă aşa cum am constatat-o noi, ar fi de aşteptat ca în cazul curarizării, atît a muşchilor *in situ* cît şi a celor izolaţi, supuşi excitaţiei electrice directe în condiţii de izotonie şi fără exercitare de efort mecanic, fosfagenul să se descompună la fel ca în muşchii normali. Determinările executate în aceste condiţii (tabela 7, col. 2, 3, 4, 5) au confirmat aşteptările noastre. Rezultă că, în condiţii de izotonie şi fără efort, excitaţia electrică

Tabela 7

Fosfagenul muşchilor gastrocnemieni de broască (*Rana ridibunda*) normali şi curarizaţi cu flaxedil supuşi *in situ* şi izolat excitaţiilor electrice directe, în condiţii de izotonie şi fără efort mecanic (exprimat în P_2O_5 mg%) 600 excitaţii în 10 min

S — muşchi sting — martor; D — muşchi drept — excitat.

Nr. crt.		Muşchi *in situ*		Muşchi izolat	
		Normal	Curarizat	Normal	Curarizat
1	2	3	4	5	
1	S	41	85	68	79
	D	25	15	37	26
2	S	41	79	58	83
	D	11	25	25	21
3	S	37	73	66	75
	D	17	14	12	27

directă duce la aceeaşi descompunere de fosfagen în muşchii curarizaţi ca şi în muşchii normali, independent de gradul lor de excitabilitate.

Nepotrivirea dintre cele două constatări cu privire la degradarea fosfagenului, făcute pe de-o parte în cazul contracţiei izometrice însoţite

de efortul mecanic, iar pe de altă parte în cazul de izotonie şi fără acest efort, s-ar putea întîmpla să fie aparentă, dat fiind că în cercetările noastre excitarea muşchilor dura mult, aceştia fiind aduşi în stare de oboseală înaintată, pe cînd în cercetările lui D. Nachmansohn această stare de oboseală înaintată nu era totdeauna realizată. Examinarea problemei din acest punct de vedere va forma obiectul unei alte lucrări.

Mai e de adăugat că paralelismul dintre cantitatea de fosfagen şi excitabilitatea musculară, constatat de mai mulţi autori pe muşchii diferitelor animale, respectiv pe diferiţii muşchi ai aceluiaşi animal, este desigur real; credem însă că acest paralelism nu este suficient pentru demonstrarea interdependenţei dintre fosfagenul muscular şi excitabilitate.

Prezentată la redacţie la 16 decembrie 1960

Institutul de biochimie
al Academiei R.P.R., Bucureşti

ФОСФАГЕН НА РАЗЛИЧНЫХ СТАДИЯХ МЫШЕЧНОЙ АКТИВНОСТИ И ВОЗБУЖДАЕМОСТИ

РЕЗЮМЕ

Биохимические основы мышечной возбуждаемости до сих пор еще не выяснены. Некоторые авторы утверждают, что между мышечной возбуждаемостью и фосфагеном существует тесная связь. Ввиду того, что до сих пор работы проводились почти исключительно на изолированных мышцах, авторы желали проверить существование этой связи на мышцах *in situ*.

Был выработан метод, позволяющий проведение исследований на живом животном в целом, и констатировано на мышцах gastrocnemius лягушки следующее: прямое электрическое возбуждение на нормальной или кураризированной лягушке, на изолированной нормальной, а также кураризированной мышце приводит к снижению мышечного фосфагена, тогда как косвенное возбуждение не изменяет содержания фосфагена в кураризированных мышцах, но значительно снижает его в случае нормальных мышц.

При всех указанных воздействиях, мышечная хронаксия нормальных животных до и после возбуждения не представляет значительных изменений. Отсюда следует, что между возбуждаемостью, выраженной через хронаксию, и разложением фосфагена не существует прямой связи. Тот факт, что результаты, полученные на кураризованных животных, у которых хронаксия повышена, соответствуют результатам, полученным для нормальных животных, подтверждает указанный вывод.

LE PHOSPHAGÈNE DANS DIVERS ÉTATS D'ACTIVITÉ ET EXCITABILITÉ MUSCULAIRE

RÉSUMÉ

Les substratums biochimiques de l'excitabilité musculaire n'ont pas encore été élucidés. Certains auteurs affirment que, entre l'excitabilité musculaire et le phosphagène, il y aurait une liaison étroite. Mais, comme jusqu'à présent on a travaillé presque exclusivement sur des muscles isolés, la vérification de l'existence de cette liaison, sur la musculature *in situ*, est devenue indispensable.

On a élaboré une méthode permettant d'effectuer des recherches sur l'animal vivant, entier, et l'on a constaté sur le gastrocnémien de la grenouille les phénomènes suivants : l'excitation électrique directe, appliquée soit à la grenouille, normale et curarisée, soit au muscle isolé, normal et curarisé, détermine une baisse du phosphagène musculaire ; l'excitation indirecte ne modifie pas le taux du phosphagène des muscles curarisés mais entraîne une baisse marquée du même, dans les muscles normaux.

Au cours de ces différentes sortes d'actions, la chronaxie musculaire des animaux normaux, déterminée avant et après la contraction, ne présente pas de différences significatives. Il en résulte que, entre l'excitabilité exprimée par la chronaxie et la décomposition du phosphagène, il n'y a pas de rapport direct. Le fait que les résultats obtenus sur des animaux curarisés, à chronaxie élevée, correspondent à ceux obtenus sur des animaux normaux confirme cette conclusion.

BIBLIOGRAFIE

1. P. EGGLETON, G. P. EGGLETON, *Further observations on phosphagen.* J. Physiol., **65**, 15 (1928).
2. G. MARTINO, *The physiological significance of phosphocreatine in the muscle.* C.A., **24**, 1666[7] (1930).
3. D. NACHMANSOHN, *Über den Zerfall der Kreatinphosphorsäure im Zusammenhang mit der Tätigkeit des Muskels. I.* Biochem. Z., **196**, 73—97 (1928).
4. D. NACHMANSOHN, *Über den Zerfall der Kreatinphosphorsäure im Zusammenhang mit der Tätigkeit des Muskels. II.* Biochem. Z., **208**, 237—256 (1929).
5. D. NACHMANSOHN, *Über den Zerfall der Kreatinphosphorsäure im Zusammenhang mit der Tätigkeit des Muskels. III.* Biochem. Z., **213**, 262—300 (1929).
6. O. MEYERHOF, *Über die Bedeutung der Guanidinophosphorsäure („Phosphagene") für die Muskelfunktion.* Naturwissenschaften, **17**, 283—287 (1929).
7. P. BORDI, *Scissione e resintesi del fosfageno e cronassia.* Ateneo Parmense, **IV**, *6*, 755—773 (1932).
8. J. RENQVIST, C. E. RAIHÄ, *Relation between the electrical irritability of the muscle and the decomposition of the creatine phosphate.* C.A., **27**, 2723[5] (1933).
9. M. A. PALLADIN, R. SIGALOVA, *Contribution à l'étude de la biochimie de l'acide créatine-phosphorique. L'influence de la section du nerf sur le taux de l'acide créatine-phosphorique dans le muscle.* Bull. Soc. Chim. Biol., **15**, 1263—71 (1933).
10. V. A. MUZHEIEV, *The change of irritability of striated muscle poisoned with monoiodacetic acid under the influence of different weights.* C.A., **30**, 7185[4] (1936).

11. Д. Н. НАСОНОВ, Д. Л. РОЗЕНТАЛ, *Фактор времени при оценке возбудимости тканей.* Физиол. ж. СССР, **XXXIX**, *4*, 405 (1953).
12. Д. Н. НАСОНОВ, Д. Л. РОЗЕНТАЛ, *Еще об измерении возбудимости проводящих тканей.* Физиол. ж. СССР, **XLI**, *1*, 121 (1955).
13. R. WIEN, *Propriétés curarisantes du 3697 R.P.* în *Documents expérimentaux et cliniques sur le Flaxédil (2559 F — 3697 R.P.) curarisant de synthèse.* Société Parisienne d'expansion chimique, Specia, Paris, 1952.
14. C. H. FISKE, Y. SUBBAROW, *The colorimetric determination of phosphorus.* J. Biol. Chem., **66**, 375 (1925).
15. K. LOHMANN, *Über die Isolierung verschiedener natürlichen Phosphorsäureverbindungen und die Frage ihrer Einheitlichkeit.* Biochem. Z., **194**, 306 (1928).
16. H. WEIL-MALHERBE, R.H. GREEN, *The catalytic effect of molybdate on the hydrolysis of organic phosphate bonds.* Biochem. J., **49**, 286 (1951).
17. А. М. АЛЕКСЕЕВА, *К вопросу о превращении креатинфосфата в креатинин и о новом методе определения креатинфосфата.* Биохимия, **16**, 97 (1951).
18. A. PALLADIN, D. FERDMAN, *Kreatinphosphorsäure.* În *Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden*, Berlin, 1936, **V**, Teil 5 A, 905.
19. K. LOHMANN, L. JENDRASSIK, *Kolorimetrische Phosphorsäurebestimmungen im Muskelextrakt.* Biochem. Z., **178**, 419 (1926).
20. Г. А. ШМИНКЕ, *Электрические измерения в физиологии и медицине.* Медгиз, Москва, 1956, 55.
21. A. YUICHI, *Studies on phosphocreatine in the skeletal muscle. VII. Relation between the frequency of muscular contraction and the phosphocreatine consumption.* C.A., 4844 f (1947).
22. G. LANGE, *Über die Dephosphorylierung von Adenosintriphosphat zu Adenosindiphosphat während der Kontraktionsphase von Froschrektusmuskeln.* Biochem. Z., **326**, 172 (1955).

BIOCHIMIA ÎN BIOLOGIA VÎRSTELOR

VITAMINELE PP, B_1, B_2 ŞI B_6 ÎN FUNCŢIE DE VÎRSTA ANIMALULUI ŞI SUB ACŢIUNEA CISTEINEI ŞI A UNOR VITAMINE CU ROL DE METILARE ŞI DE METABOLIZARE A SULFULUI

DE

S. OERIU

MEMBRU CORESPONDENT AL ACADEMIEI R.P.R.

C. RUSSU şi I. CRUCEANU

La baza acestei lucrări stau interrelaţiile mecanismelor biochimice în funcţie de vîrsta animalului [1] — [14].

Problema pusă în această lucrare este dacă şi în ce măsură vitaminele PP, B_1, B_2 şi B_6 suferă modificări în concentraţia lor în funcţie de vîrsta animalului şi dacă administrarea de cisteină sau de cisteină în asociaţie cu una din vitaminele: B_6, B_{12} sau acidul folic influenţează restabilirea echilibrului biochimic observat la animalul tînăr.

MATERIAL ŞI METODE DE LUCRU

Cercetările s-au făcut pe 300 şobolani din care 50 şobolani tineri (martori) şi 250 şobolani bătrîni, împărţiţi în 5 grupe egale a cîte 50 animale: martore, animale tratate cu cisteină, cisteină + vitamina B_6, cisteină + vitamina B_{12} sau cisteină + acid folic.

Durata tratamentului a fost de 21 zile.

Primul grup de animale a primit cisteină intramuscular, zilnic cîte 0,0229 g/kg corp; toate celelalte 3 grupuri au primit în afară de cisteină, în aceeaşi doză, una din vitaminele menţionate: vitamina B_6 (0,00175 g/kg corp), vitamina B_{12} (0,083 γ/kg corp) pe cale intramusculară sau acid folic „per os" (0,05 mg/kg corp).

Recoltarea sîngelui prin puncţie cardiacă s-a făcut pe oxalat de potasiu pentru dozarea vitaminelor B_1, PP şi B_6; la dozarea vitaminei B_2 s-a folosit serul sangvin.

Dozările vitaminelor PP, B_1, B_2 şi B_6 s-au făcut după metodele lui P. György [15].

Rezultatele cercetărilor sînt cuprinse în tabela 1.

Tabela 1

Valorile medii (în mg%) ale vitaminelor PP, B_1 şi B_6 din sîngele total şi ale vitaminei B_2 din serul sangvin la animalele (şobolani) tinere şi bătrîne martore şi la cele bătrîne tratate cu cisteină, cisteină + vitamina B_6, cisteină + vitamina B_{12} sau cisteină + acid folic

Vitamine	Animale martore		Animale bătrîne tratate			
	tinere	bătrîne	cisteină	cisteină + vit. B_6	cisteină + vit. B_{12}	cisteină + acid folic
Vitamina PP	0,210 (±0,020)	0,070 (±0,010)	0,096 (±0,009)	0,072 (±0,012)	1,320 (±0,020)	0,244 (±0,015)
,, B_1	0,054 (±0,002)	0,020 (±0,005)	0,060 (±0,005)	0,108 (±0,007)	0,020 (±0,006)	0,025 (±0,007)
,, B_2	0,166 (±0,010)	0,033 (±0,05)	0,133 (±0,015)	0,066 (±0,004)	0,200 (±0,015)	0,070 (±0,007)
,, B_6	0,135 (±0,015)	0,120 (±0,015)	0,120 (±0,008)	0,150 (±0,010)	0,320 (±0,020)	0,260 (±0,013)

DISCUŢII

Micşorarea în funcţie de vîrstă a concentraţiei aminoacizilor liberi şi totali (arginină, ornitină, prolină, triptofan), ce stau la baza sintezei vitaminei PP, îşi găseşte expresie printr-o scădere foarte accentuată a acesteia. Pe de altă parte, concentraţia scăzută a vitaminei PP îngreuiază utilizarea ei în tulburările echilibrului biochimic al cisteinei (A. E. Braunstein [16]). Administrarea de cisteină + acid folic restabileşte echilibrul vitaminei PP propriu animalului tînăr (creşterea concentraţiei vitaminei PP este şi sub influenţa vitaminei B_{12} mult crescută).

Relaţiile dintre vitaminele PP şi B_{12} în oxidaţiile celulare se oglindesc la animalul bătrîn în valorile scăzute ale acestor vitamine şi în procesele de oxidare celulară mult micşorate.

Cisteina + acidul folic restabileşte integral echilibrul concentraţiei vitaminei PP şi în parte pe cel al vitaminei B_2 (mult crescută sub influenţa vitaminei B_{12}).

Raportul dintre vitaminele B_1 şi B_2 este restabilit de cisteină, iar valori foarte crescute de vitamină B_6 se obţin la animalul bătrîn sub acţiunea cisteinei + acid folic şi a cisteinei + vitamina B_{12}; acest fapt prezintă un interes deosebit, dat fiind rolul vitaminei B_6 în metabolizarea cisteinei şi glutationului şi a sulfului în general şi rolul ei de coferment în transformarea triptofanului în vitamină PP.

Rezultatele evidenţiază interrelaţia dintre biosinteza vitaminelor studiate în organismul animalului bătrîn şi rolul cisteinei în mecanismul de sinteză a acestora, în condiţiile stabilite.

CONCLUZII

Valorile vitaminelor PP, B_1, B_6 din sînge şi ale vitaminei B_2 din serul sangvin al animalelor bătrîne (şobolani) sînt mult scăzute faţă de cele ale animalelor tinere. Concentraţiile cele mai scăzute le prezintă vitaminele B_2 şi PP.

Administrarea de cisteină, cisteină + vitamină B_6, cisteină + vitamina B_{12} sau cisteină + acid folic la animalele bătrîne evidenţiază, în condiţiile de lucru stabilite, rolul cisteinei în mecanismul de sinteză a vitaminelor PP, B_1, B_2 şi B_6 şi interrelaţia dintre ele în biosinteza lor.

Prezentată la redacţie la 21 ianuarie 1961

Colectivul de chimioterapie
al Academiei R.P.R.
şi Institutul de cercetări farmaceutice
şi Controlul de stat al medicamentului din
Ministerul Sănătăţii şi Prevederilor Sociale

РОЛЬ БИОХИМИИ В ВОЗРАСТНОЙ БИОЛОГИИ

ВИТАМИНЫ PP, B_1, B_2 И B_6 В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВОЗРАСТА ЖИВОТНОГО, ОТ ДЕЙСТВИЯ ЦИСТЕИНА И НЕКОТОРЫХ МЕТИЛИРУЮЩИХ И СПОСОБСТВУЮЩИХ ОБМЕНУ СЕРЫ ВИТАМИНОВ

РЕЗЮМЕ

Содержание витаминов PP, B_1, B_6 в крови, а также витамина B_2 в кровяной сыворотке старых животных (крыс) значительно меньше по сравнению с молодыми животными. Самые низкие концентрации соответствуют витаминам PP и B_2.

Введение цистеина, цистеина + витамина B_6, цистеина + витамина B_{12} или цистеина + фолевой кислоты старым животным выявляет, при определенных условиях работы, роль цистеина в механизме синтеза витаминов PP, B_1, B_2 и B_6 и их взаимную связь при биосинтезе.

BIOCHEMISTRY IN THE BIOLOGY OF AGES

VITAMINS PP, B_1, B_2 AND B_6 IN RELATION TO THE AGE OF THE ANIMALS AND UPON ADMINISTRATION OF CYSTEINE AND OF SOME VITAMINS PLAYING A ROLE IN THE PROCESSES OF METHYLATION AND METABOLIZATION OF SULPHUR

ABSTRACT

The values of vitamins PP, B_1, B_6 (in blood) and of vitamin B_2 (in blood serum) are much lower in old animals (rats) than in young ones. Lowest concentrations are ascertained with vitamins B_2 and PP.

The administration of cysteine, cysteine + vitamin B_6, cysteine + + vitamine B_{12} or cysteine + folic acid, to old animals, renders the role of cysteine evident in the synthesis of vitamins PP, B_1, B_2 and B_6 as well as the interrelation existing among these vitamins in their biosynthesis, under the given conditions.

BIBLIOGRAFIE

1. C. I. PARHON, S. OERIU, I. TĂNASE, Bul. şt. Acad. R.P.R., secţia, şt. med., **VII**, *3*, 893 (1955).
2. C. I. PARHON, S. OERIU, I. TĂNASE, Bul. şt. Acad. R.P.R., secţia şt. med., **VII**, *3*, 893 (1955).
3. C. I. PARHON, S. OERIU, I. TĂNASE, Studii şi cercetări de chimie, **V**, *2*, 299 (1957).
4. К. И. ПАРХОН, С. ОЕРИУ, *Роли дисульфидных и метильных групп в процессах старения.* Биохимия, **25**, *1*, 61 (1960).
5. S. OERIU, A. GHEORGHE, M. GALIANO-ŞERBAN, Studii şi cercetări de biochimie, *4*, 329 (1958).
6. S. OERIU, Revue de Chimie, **III**, *1*, 119 (1958).
7. S. OERIU, *The effect of cysteine on the methionine content in the animal and plant organism.* În *The Origin of Life on the Earth*, Pergamon Press, London, 1959, 572—577.
8. S. OERIU, I. TĂNASE, *Biochemistry in the biology of ages. XVII. Desequilibrium in cycled and heterocycled amino acids in old men.* IV-th International Congress on Clinical Chemistry, Edinburgh, Scotland, august 1960, Programme, p. 42.
9. S. OERIU, L. ENACHE, *Biochemistry in the biology of ages. The citric acid cycle in relation with age. I. Pyruvic, α-ketoglutaric and citric acids in the blood of rats of various ages.* IV-th International Congress on Clinical Chemistry, Edinburgh, Scotland, august 1960, Programme, 42.
10. S. OERIU, G. COSTESCU, O. TEODORESCU, *Biochemical study in the biology of ages. XIV. Study on dicarboxylic amino acids in relation with age and treatment.* IV-th International Congress on Clinical Cehmistry, Edinburgh, Scotland, august 1960, Programme, 40.
11. S. OERIU, I. TĂNASE, *Biochemistry in the Biology of ages. Free and total thioamine and oxyamine acids in relation to age in humans.* IV-th International Congress on Clinical Chemistry, Edinburgh, Scotland, august 1960, Programme, 41.
12. S. OERIU, I. TĂNASE, *Biochemistry in the Biology of ages. The Part played by amino acids in the biological mechanism of aging processes in men.* V-th International Congress of Gerontology, San Franscisco, august 1960, final Program, 84.
13. C. I. PARHON, S. OERIU, *N. Biochemistry in the biology of ages. Demethylation and accumulation of -S-S- bounds, a ground mechanism in the processes of aging.* V-th International Congres of Gerontology, San Franscisco, august 1960, final Program, 86.
14. C. I. PARHON, S. OERIU, *Rolul grupărilor disulfidice şi metilice în procesele de îmbătrînire.* Studii şi cercetări de biochimie, *4*, 359 (1959).
15. P. GYÖRGY, *Vitamin* Methods, 1951, **II**, 299—301; 319; 342—344; 346.
16. А. Е. БРАУНШТЕЙН, *Биохимия аминокислотного обмена.* Изд. АМН СССР, Москва, 1949.

BIOCHIMIA ÎN BIOLOGIA VÎRSTELOR

GLUTATIONUL ÎN FUNCȚIE DE VÎRSTĂ ȘI SUB ACȚIUNEA CISTEINEI, A ACIDULUI FOLIC ȘI A VITAMINELOR B_6 ȘI B_{12}

DE

S. OERIU

MEMBRU CORESPONDENT AL ACADEMIEI R.P.R.

și M. TIGHECIU

Glutationul, cunoscut ca sistem oxido-reductor reversibil în metabolizarea celulară, este și un activator al unor enzime proteolitice, cum ar fi catepsina, pepsina etc. De altfel, parte din enzime (și chiar hormoni), de natură proteică, inactivați prin blocarea grupării — SH, sînt regenerați de glutationul redus (A. E. Braunstein [1]).

Rolul glutationului în procesele de oxido-reducere pune problema studiului modificărilor concentrației glutationului (redus, total și oxidat) în funcție de vîrstă. La om, ca și la animal (șobolani, cobai, iepuri, cîini), valoarea glutationului oxidat crește cu vîrsta. Sub acțiunea cisteinei, valorile glutationului oxidat prezintă o tendință de revenire spre valorile proprii animalelor tinere [2] — [7].

Cum vitaminele de metilare și de metabolizare a sulfului exercită un rol și asupra proceselor de oxido-reducere, apare necesar studiul unor eventuale modificări ale concentrației glutationului sub acțiunea acestor vitamine, ca și sub aceea a cisteinei, substanță cu grupare — SH liberă și cu rol foarte important în metabolizarea a numeroase vitamine la animal.

MATERIAL ȘI METODE DE LUCRU

Cercetările s-au făcut pe 180 șobolani masculi, din care 30 tineri și 150 bătrîni.

Animalele bătrîne au fost subîmpărțite în 5 grupuri a cîte 30 animale; primul grup îl formează animalele martore, al doilea animalele supuse tratamentului cu cisteină, al treilea cu cisteină + vitamina B_6, al

patrulea cu cisteină + vitamina B_{12}, iar al cincilea cu cisteină + acid folic.

Durata tratamentului la ultimele 4 grupuri de animale a fost de 21 zile.

Primul grup de animale a primit cisteină intramuscular, zilnic cîte 0,0229 g/kg corp; toate celelalte 3 grupuri au primit, în afară de cisteină în aceeaşi doză, una din vitaminele menţionate: vitamina B_6 (0,00175 g/kg corp) sau vitamina B_{12} (0,083 γ/kg corp) pe cale intramusculară, sau acid folic „per os" (0,05 mg/kg corp).

Recoltarea sîngelui s-a făcut pe oxalat de potasiu prin puncţie în cord.

Glutationul redus, total şi oxidat s-a dozat după metoda lui G. Woodward [8].

REZULTATE

Administrarea de cisteină, cisteină + vitamina B_6, cisteină + vitamina B_{12} sau cisteină + acid folic, la animalele bătrîne, face ca valorile crescute ale glutationului oxidat să scadă spre valorile observate la animalele tinere.

Tabela 1

Valorile glutationului oxidat, redus şi total (în mg%) din sîngele animalelor (şobolani) tinere şi bătrîne martore şi al celor bătrîne tratate cu cisteină, cisteină + vitamina B_6, cisteină + acid folic sau cisteină + vitamina B_{12}

	Animale martore		Animale bătrîne tratate			
	Tinere	Bătrîne	Cisteină	Cisteină + vit. B_6	Cisteină + vit. B_{12}	Cisteină + acid folic
Glutation oxidat	3,3 ±0,4	6,05 ±0,37	4,50 ±0,26	3,80 ±0,3	2,80 ±0,18	2,60 ±0,2
Glutation redus	30,9 ±0,8	28,50 ±0,17	30,20 ±0,85	26,20 ±0,5	26,60 ±0,18	21,50 ±0,12
Glutation total	34,1 ±0,8	34,50 ±0,15	34,70 ±0,85	30,00 ±0,8	29,50 ±0,3	24,10 ±0,15

CONCLUZII

Procesele de oxido-reducere micşorate la animalul bătrîn îşi găsesc expresie şi printr-o cumulare de grupări disulfidice, printr-o creştere a glutationului oxidat.

Administrarea de cisteină la şobolani bătrîni este urmată de o scădere a glutationului oxidat, în sensul valorilor proprii organismului tînăr.

Cisteina în asociaţie cu vitamina B_6, vitamină de metabolizare a sulfului, duce la o scădere mai accentuată a glutationului oxidat.

Valori şi mai scăzute se obţin sub acţiunea administrării de cisteină în asociaţie cu una din vitaminele de metilare — vitamina B_{12} sau acid folic.

Prezentată la redacţie la 18 octombrie 1960

Colectivul de chimioterapie al Academiei R.P.R. şi Catedra de chimie biologică a Facultăţii de medicină generală din I.M.F., Bucureşti

РОЛЬ БИОХИМИИ В ВОЗРАСТНОЙ БИОЛОГИИ

ГЛУТАТИОН В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВОЗРАСТА И ОТ ДЕЙСТВИЯ ЦИСТЕИНА, ФОЛЕВОЙ КИСЛОТЫ И ВИТАМИНОВ B_6 и B_{12}

РЕЗЮМЕ

Замедленное протекание окислительно-восстановительных процессов у старых животных наряду с другим выражается также накоплением дисульфидных групп, возрастанием количества окисленного глутатиона.

При введении старым крысам цистеина замечается снижение количества окисленного глутатиона, доходящего до значений, соответствующих молодому организму.

Цистеин, ассоциированный с витамином B_6 (витамин способствующий обмену серы), вызывает еще большее снижение количества окисленного глутатиона.

Наименьшее значение получается под действием цистеина, ассоциированного с одним из метилирующих витаминов — витамина B_{12} или фолевой кислотой.

BIOCHEMISTRY IN THE BIOLOGY OF AGES

GLUTATHIONE IN RELATION TO AGE AND UPON ADMINISTRATION OF CYSTEINE, FOLIC ACID AND VITAMIN B_6 AND B_{12}

ABSTRACT

The decreased processes of oxido-reduction observed in old animals express themselves also by an accumulation of — S — S — bounds, by an increase of oxidized glutathione.

The administration of cysteine to old rats leads to a decrease of oxidized glutathione in the sense of values proper to young animals.

Cysteine associated with vitamin B_6 — a vitamin which plays a role in the metabolization of sulphur — leads to a more marked decrease of oxidized glutathione.

Still lower values of oxidized glutathione are observed after administering cysteine associated with one of the vitamins playing a role in the processes of methylation, with vitamin B_{12} or with folic acid.

BIBLIOGRAFIE

1. А. Е. Браунштаин, *Биохимия аминокислотного обмена*, Изд. АМН СССР, Москва, 1949.
2. C. I. Parhon, S. Oeriu şi colaboratori, Com. Acad. R.P.R., **VIII**, *1*, 21 (1957).
3. C. I. Parhon, S. Oeriu, I. Tănase, Studii şi cercetări de chimie, **V**, *2*, 299 (1957).
4. S. Oeriu, Revue de Chimie, **III**, *1*, 119 (1958).
5. S. Oeriu, A. Gheorghe, M. Galiano-Şerban, Studii şi cercetări de biochimie, **I**, *4*, 329 (1958).
6. C. I. Parhon, S. Oeriu, Studii şi cercetări de biochimie, *4*, 359 (1959).
7. К. И. Пархон, С. Ориу, *Роли дисульфидных и метильных групп в процессах старения*, Биохимия, АН. СССР, Москва, **25** *1*, 61 (1960).
8. G. Woodward, E. S. Fry, J. Biol. Chem., **97**, 465 (1932).

BIOCHIMIA ÎN BIOLOGIA VÎRSTELOR

VITAMINA B_{12} ŞI ACIZII FOLIC ŞI PANTOTENIC ÎN FUNCŢIE DE VÎRSTA ANIMALULUI ŞI SUB ACŢIUNEA CISTEINEI ŞI A UNOR VITAMINE CU ROL DE METILARE ŞI DE METABOLIZARE A SULFULUI

DE

S. OERIU
MEMBRU CORESPONDENT AL ACADEMIEI R.P.R.
M. OANCEA şi ST. BALLIU

Demetilarea şi cumularea de grupări disulfidice în procesele de îmbătrînire [1]—[12] au făcut necesar studiul acţiunii, în funcţie de vîrstă, a vitaminei B_{12} şi a acidului folic, vitamine cu rol de metilare, şi a vitaminei B_6 cu rol de metabolizare a sulfului, ce poate fi substituită în unele din mecanismele sale de cisteină [13].

Pornind de la rezultatele cercetărilor noastre anterioare care au evidenţiat că administrarea de cisteină la animale bătrîne restabileşte valorile proprii animalelor tinere din serul sangvin pentru un număr însemnat de aminoacizi, îndeosebi tioaminoacizii şi aminoacizii care participă la sinteza şi metabolizarea acestora [14]—[17], ne-am propus să urmărim în ce măsură administrarea vitaminelor B_{12}, acid folic şi B_6 ar potenţa activitatea acesteia.

Ţinînd seama de rolul acidului pantotenic în procesele de acetilare a organismului viu, funcţie pe care o exercită ca constituent al coenzimei A, am socotit util şi studiul modificării concentraţiei sale în funcţie de vîrstă şi sub acţiunea cisteinei şi a vitaminelor menţionate.

MATERIAL ŞI METODA DE LUCRU

Cercetările s-au făcut pe 50 şobolani tineri martori şi 150 şobolani bătrîni, grupaţi în : 50 animale martore, 25 tratate cu cisteină, 25 cu cisteină + vitamina B_6, 25 cu cisteină + vitamina B_{12} şi 25 cu cisteină + acid folic.

Primul grup de animale a primit cisteină intramuscular, zilnic cîte 0,0229 g/kg corp; celelalte 3 grupuri au primit, în afară de cisteină în aceeaşi doză, una din vitaminele menţionate: vitamina B_6 (0,00175 g/kg corp), vitamina B_{12} (0,083 γ/kg corp) pe cale intramusculară, sau acid folic (0,05 mg/kg corp) „per os".

Durata tratamentului a fost de 21 de zile, după care s-a recoltat sînge prin puncţie în cord.

La determinările în serul sangvin ale acidului folic, acidului pantotenic şi ale vitaminei B_{12} în funcţie de vîrsta animalului şi de tratament s-au folosit metode microbiologice.

Ca germen test s-a folosit: pentru vitamina B_{12}, *E.coli* iradiat, iar pentru acidul folic şi acidul pantotenic *Streptococcus faecalis — Enterococcus* — (germeni care cresc pe medii sintetice în prezenţa acestor vitamine) Inoculul a fost făcut cu suspensii microbiene de concentraţie determinată *).

Evaluarea s-a făcut prin metoda turbidimetrică.

Deproteinizarea serului s-a făcut prin diluare, precipitare, fierbere şi centrifugare repetate. Serul astfel obţinut (1 ml ser şi 3 ml apă) se adaugă, în mod steril, mediului sintetic, după care se fac diluţiile din 2 în 2.

Proba etalon conţine mediul indicat, căruia i s-au adăugat extemporaneu, în mod steril, vitamina B_{12}, acid folic sau acid pantotenic.

---

*) *Formula mediului de întreţinere pentru mutant coli*

Soluţie cazeină 10% hidrolizată cu HCl			12 ml
Vitamina B_{12} crist. sau sol. puriss			80 γ
K_2HPO_4	0,04	g	
$SO_4Fe \cdot 7H_2O$	0,001	g	
$SO_4Mg \cdot 7H_2O$	0,04	g	se filtrează fierbinte, se distribuie în eprubete; se sterilizează 30 min la 120°C şi se înclină.
L-Asparagină	0,03	g	
Glicerină	0,5	ml	
Agar	4,0	g	
Apă distilată	170	ml	

Formula mediului de inocul pentru E. coli iradiat şi enterococ

K_2HPO_4	7 g	
K_2PO_4	3 g	
Citrat de $Na \cdot 3H_2O$	0,5 g	se sterilizează 30 min la 110°C
Mg sulfuric $\cdot 7H_2O$	0,1 g	
Apă distilată q. s.	1000 ml	
	pH = 7	

Inoculul necesar. Se trece mutantul coli de pe mediul de întreţinere (se poate folosi aceeaşi tulpină ţinînd-o în frigider 7—8 zile) pe mediul de inocul, care se ţine la termostat timp de 24 de ore pentru a face suspensia din inocul (considerînd-o de un miliard germeni/ml) în diluţii cu apă distilată pînă la o suspensie de 500 000 germeni/ml.

Enterococ

Formula mediului pe care se trece germenul:

Macerat carne	1000 g
ClNa	5 g
Peptonă	10 g
Agar	20 g
	pH = 7,2

Inoculul de enterococ. Se lucrează cu o suspensie în apă distilată de 1,5 miliarde germeni din tulpina de 24 ore.

REZULTATE

Valorile vitaminei B_{12}, ale acidului folic şi ale acidului pantotenic scad în funcţie de vîrsta animalului. Sub acţiunea cisteinei se observă la animalul bătrîn o creştere însemnată în concentraţia vitaminelor B_{12}, acid folic şi acid pantotenic. Cisteina singură şi în asociaţie cu acidul folic restabileşte echilibrul vitaminei B_{12} şi creşte în mod foarte marcat valorile acidului pantotenic şi ale acidului folic.

Tabela 1

Valorile medii ale vitaminei B_{12} (γ‰), ale acidului folic (γ%) şi ale acidului pantotenic (γ/ml) din serul sangvin la animale (şobolani) tinere şi bătrîne şi la cele bătrîne tratate cu cisteină, cisteină + vitamina B_6, cisteină + vitamina B_{12}, cisteină + acid folic

Vitamine	Animale martore		Animale bătrîne tratate			
	Tinere	Bătrîne	Cisteină	Cisteină + vit. B_6	Cisteină + vit. B_{12}	Cisteină + acid folic
Vitamina B_{12}	0,0273 (±0,0007)	0,0128 (±0,0010)	0,0288 (±0,0012)	0,0128 (±0,015)	0,0128 (±0,0015)	0,0256 (±0,015)
Acid folic	31,3000 (±1,25)	18,0000 (±0,90)	64,0000 (±1,20)	194,0000 (±2,10)	50,0000 (±0,95)	390,0000 (±1,80)
Acid pantotenic	117,0000 (±1,70)	0,2400 (±0,09)	9,0000 (±0,07)	88,0000 (±1,45)	20,0000 (±0,45)	156,0000 (±2,10)

CONCLUZII

Cercetările asupra relaţiei dintre vitamina B_{12}, acidul folic şi acidul pantotenic în funcţie de vîrsta animalului şi sub acţiunea cisteinei, cisteinei + vitamina B_6, cisteinei + vitamina B_{12} sau cisteinei + acid folic, duc la următoarele concluzii:

— concentraţiile acidului folic, acidului pantotenic şi vitaminei B_{12} din serul sangvin al animalelor bătrîne (şobolani) sînt mult scăzute faţă de concentraţiile animalelor tinere;

— sub acţiunea cisteinei se restabileşte concentraţia vitaminei B_{12};

— în aceleaşi condiţii de lucru se observă o creştere foarte accentuată a valorilor acizilor folic şi pantotenic.

Mărirea foarte accentuată a concentraţiei acidului folic şi a acidului pantotenic sub acţiunea cisteinei poate să ajute la înţelegerea unor procese biochimice în funcţie de vîrsta animalului.

Prezentată la redacţie la 27 ianuarie 1961

Colectivul de chimioterapie
al Academiei R.P.R. în colaborare
cu Institutul de cercetări farmaceutice
şi Controlul de stat al medicamentului din
Ministerul Sănătăţii şi Prevederilor Sociale

РОЛЬ БИОХИМИИ В ВОЗРАСТНОЙ БИОЛОГИИ

ВИТАМИН B_{12}, ФОЛЕВАЯ И ПАНТОТЕНОВАЯ КИСЛОТЫ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВОЗРАСТА ЖИВОТНОГО И ОТ ДЕЙСТВИЯ ЦИСТЕИНА И НЕКОТОРЫХ МЕТИЛИРУЮЩИХ И СПОСОБСТВУЮЩИХ ОБМЕНУ СЕРЫ ВИТАМИНОВ

РЕЗЮМЕ

Исследования отношения между витамином B_{12}, фолевой и пантотеновой кислотами в зависимости от возраста животного, под действием цистеина, цистеина + витамина B_6, цистеина + витамина B_{12} или цистеина + фолевая кислота приводят к следующим выводам:

Содержание фолевой, пантотеновой кислот и витамина B_{12} в кровяной сыворотке старых животных (крыс) значительно понижены по сравнению с содержанием указанных веществ у молодых животных.

Под действием цистеина восстанавливается концентрация витамина B_{12}.

В одинаковых условиях работы значительно повышается содержание фолевой и пантотеновой кислот.

Очень большое повышение концентрации фолевой и пантотеновой кислот под действием цистеина может помочь в объяснении некоторых биохимических процессов в зависимости от возраста животных.

BIOCHEMISTRY IN THE BIOLOGY OF AGES

VITAMIN B_{12}, FOLIC AND PANTOTHENIC ACIDS IN RELATION TO THE AGE OF THE ANIMALS AND UPON ADMINISTRATION OF CYSTEINE AND OF SOME VITAMINS PLAYING A ROLE IN THE PROCESSES OF METHYLATION AND METABOLIZATION OF SULPHUR

ABSTRACT

Investigations on the relation between vitamin B_{12}, folic acid and pantothenic acid, in animals of various ages and after administering cysteine, cysteine + vitamin B_6, cysteine + vitamin B_{12} or cysteine + folic acid, lead to the following conclusions:

— Concentrations of folic acid, pantothenic acid and vitamin B_{12} in blood serum are much lower in old animals (rats) than in young ones;

— The administration of cysteine to old animals reestablishes the amount of vitamin B_{12};

— Under the same experimental conditions, a very marked increase of the concentration of folic and pantothenic acids takes place.

This very marked increase of folic and pantothenic acids, under the effect of cysteine, may contribute to the understanding of some biochemical processes in relation with age.

BIBLIOGRAFIE

1. C. I. PARHON, S. OERIU, I. TĂNASE, Bul. şt. Acad. R.P.R., secţia şt. med., **VII**, *3*, 893 (1955).
2. C. I. PARHON, S. OERIU, I. TĂNASE, Bul. şt. Acad. R.P.R., secţia şt. med., **VII**, *3*, 891 (1955).
3. C. I. PARHON, S. OERIU, I. TĂNASE, Studii şi cercetări de chimie, **V**, 2, 299 (1957).
4. К. И. ПАРХОН, С. ОЕРИУ, *Роли дисульфидных и метильных групп в процессах старения*. Биохимия, **25**, *1*, 61 (1960).
5. S. OERIU, A. GHEORGHE, M. GALIANO-ŞERBAN, Studii şi cercetări de biochimie, *4*, 329 (1958).
6. S. OERIU, Revue de Chimie, **III**, *1*, 119 (1958).
7. S. OERIU, *The effect of cystein on the methionine content*. În *The Origin of Life on the Earth*, Pergamon Press, London, 1959, 572—577.
8. S. OERIU, I. TĂNASE, *Biochemistry in the biology of ages. XVII. Desequilibrium in cycled and heterocycled amino acids in old men*. IV-th International Congress on Clinical Chemistry, Edinburgh, Scotland, august 1960, Programme, 42.
9. S. OERIU, L. ENACHE, *Biochemistry in the biology of ages. The citric acid cycle in relation with age. I. Pyruvic, α-ketoglutaric and citric acids in the blood of rats of various ages*. IV-th International Congress on Clinical Chemistry, Edinburgh, Scotland, august 1960, Programme, 42.
10. S. OERIU, G. COSTESCU, O. TEODORESCU, *Biochemical study in the biology of ages. XIV. Study on dicarboxylic amino acids in relation with age and treatment*. IV-th International Congress on Clinical Chemistry, Edinburgh, Scotland, august 1960, Programme, 40.
11. S. OERIU, I. TĂNASE, *Biochemistry in the biology of ages. XV. Free and total thioamino and oxyamino acids in relation with age in humans*. IV-th International Congress on Clinical Chemistry, Edinburgh, Scotland, august 1960, Programme, 41.
12. S. OERIU, I. TĂNASE, *Biochemistry in the biology of ages. The role of amino acids in the biochemical mechanism of ageing processes in man*. V-th International Congress of Gerontology, San Francisco, august 1960, final Program, 84.
13. А. Е. БРАУНШТАИН, *Биохимия аминокислотного обмена*. Изд. АМН СССР, Москва, 1949.
14. C. I. PARHON, S. OERIU, *Biochemistry in the biology of ages. Demethylation and accumulation of -S-S-bounds, a ground mechanism in the processes of ageing*. V-th International Congress of Gerontology, San Francisco, august 1960, final Program, 86.
15. C. I. PARHON, S. OERIU, *Rolul grupărilor disulfidice şi metilice în procesele de îmbătrînire*. Studii şi cercetări de biochimie, *4*, 359 (1959).
16. S. OERIU, I. TĂNASE, *Biochemistry in the biology of ages. The role played by cysteine, vitamin B_6 and B_{12} and folic acid in the metabolization of amino acids, in relation with age*. V-th International Congress of Gerontology, San Francisco, august 1960, final Program, 86.
17. S. OERIU, Revue des sciences medicales, Acad. R.P.R., 1961.

STUDIUL ACTIVITĂȚII RESPIRATORII ȘI DEHIDRAZICE LA *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS H. RATTI* SUB ACȚIUNEA UNOR SUBSTANȚE CU ACȚIUNE ANTITUBERCULOASĂ

DE

S. OERIU

MEMBRU CORESPONDENT AL ACADEMIEI R.P.R.

O. TEODORESCU și M. TIGHECIU

Cercetările noastre asupra modificării respirației bacilului tuberculos în prezența unor substanțe cu acțiune antituberculoasă duc la concluzia existenței unui raport între intensitatea gradului respirator și activitatea dehidrazică a acestora [1]—[9].

În lucrarea de față ne-am propus studiul activității dehidrazice și respiratorii a bacilului *Mycobacterium tuberculosis H. Ratti* în prezența a două substanțe cu structură chimică și acțiune tuberculostatică mult diferite, ele avînd o acțiune tuberculicidă neînsemnată, ceea ce duce la o ușoară adaptare a germenilor la aceste substanțe și la dezvoltarea rezistenței microbiene.

S-au folosit tulpini de *Mycobacterium tuberculosis H. Ratti* sensibili și rezistenți la 1 000 γ streptomicină. Activitatea dehidrazică a germenilor s-a determinat pe substrat de glicerol în prezența streptomicinei și a hidrazonei piruvice a acidului izonicotinic.

Rezultatele obținute sînt date în tabelele 1 și 2.

CONCLUZII

Activitatea respiratorie ca și cea dehidrazică (pe substrat de glicerol) a germenilor de *Mycobacterium tuberculosis H. Ratti*, fie sensibili fie rezistenți la 1 000 γ streptomicină, nu se diferențiază în mod deosebit în prezența streptomicinei și a hidrazonei piruvice a acidului izonicotinic.

Rezultatele confirmă cercetările noastre anterioare după care nu atît acțiunea tuberculostatică, cît cea tuberculicidă a substanțelor influen-

Tabela 1

Activitatea dehidrazică a *Mycobacterium tuberculosis H. Ratti* în prezența streptomicinei, respectiv a hidrazonei piruvice a acidului izonicotinic

	Tulpină sensibilă		Tulpină rezistentă la 1 000 γ/ml streptomicină	
	Activitate dehidrazică	Diferență de activitate dehidrazică	Activitate dehidrazică	Diferență de activitate dehidrazică
Martor	Media % 11,9	Media % —	Media % 24,1	Media % —
Streptomicină 10 γ/ml	7,4	−4,5	25,0	+0,9
Hidrazona piruvică a acidului izonicotinic 10 γ/ml	21,1	+9,2	26,8	+2,7
Martor	21,0	—	22,6	—
Streptomicină 40 γ/ml	20,7	−1,2	21,5	−1,0
Hidrazona piruvică a acidului izonicotinic 40 γ/ml	21,1	−0,8	21,6	−0,9
Martor	31,2	—	24,1	—
Streptomicină 100 γ/ml	11,9	−19,3	20,5	−3,6
Hidrazona acidului izonicotinic 100 γ/ml	12,4	−18,8	16,6	−7,5

Tabela 2

Activitatea respiratorie a *Mycobacterium tuberculosis H. Ratti* în prezența streptomicinei, respectiv a hidrazonei piruvice a acidului izonicotinic

		Mycobacterium tuberculosis H. Ratti sensibil	*Mycobacterium tuberculosis H. Ratti* rezistent la 1 000 γ/ml streptomicină
		Media %	Media %
Streptomicină	10 γ	+3,15	+18,9
	40 γ	+0,40	+8,0
	80 γ	−2,40	—
	100 γ	−8,7	+6,2
	1 000 γ	−9,2	+4
	10 000 γ	−8,0	−3
	100 000 γ	−28,1	−12
Hidrazona piruvică a acidului izonicotinic	10 γ	+12	+ 7
	40 γ	+23	− 6
	100 γ	− 5	−14,4
	1 000 γ	−10	−20,3
	10 000 γ	−21	−37,2

ţează activitatea respiratorie şi dehidrazică a germenilor puşi în contact cu substanţele menţionate.

Prezentată la redacţie la 18 octombrie 1960

I.M.F., Catedra de biochimie, Bucureşti

ИЗУЧЕНИЕ ДЫХАТЕЛЬНОЙ И ДЕГИДРАЗНОЙ АКТИВНОСТИ MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS H. RATTI ПОД ДЕЙСТВИЕМ НЕКОТОРЫХ ОБЛАДАЮЩИХ ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНЫМ ДЕЙСТВИЕМ ВЕЩЕСТВ

РЕЗЮМЕ

Дыхательная, а также дегидразная (на глицерине) активность бацилл Mycobacterium tuberculosis H. Ratti, чувствительных или резистентных по отношению к 1000 мг стрептомицина, не различается особенно в присутствии стрептомицина и пировиноградного гидразона изоникотиновой кислоты.

Полученные результаты подтверждают наши прежние исследования, согласно которым скорее туберкулицидное действие данных веществ, чем их туберкулостатическое действие, влияет на дыхательную и дегидразную активность бацилл, находящихся в контакте с этими веществами.

STUDY OF RESPIRATORY AND DEHYDRASE ACTIVITY OF *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS H. RATTI* IN CONTACT WITH ANTITUBERCULAR SUBSTANCES

ABSTRACT

The respiratory as well as the dehydrase activity (studied on glycerol substratum) of *Mycobacterium tuberculosis H. Ratti*, both sensitive and resistent to 1 000 μg streptomycine, do not markedly differ in contact with either streptomycine or pyruvic hydrazone of isonicotinic acid.

The results confirm our former investigations which have shown that the tuberculicidal action rather than the tuberculostatic one influences the respiratory and dehydrase activity of germs in presence of antitubercular substances.

BIBLIOGRAFIE

1. S. OERIU, *Beiträge zum Studium der Resistenz von Mycobacterium tuberculosis gegenüber chemotherapeutischen Substanzen.* Farmaceutické Symposium, Praha **IX**, 3—7 (1956), supl. p. 18.
2. S. OERIU, A. GHEORGHE, M. TIGHECIU, Studii şi cercetări de biochimie, *1*, 25 (1959).
3. S. OERIU, *Studii asupra unor căi de inhibare a dezvoltării rezistenţei microbiene.* Volumul *A patra Sesiune ştiinţifică a Institutului de medicină şi farmacie*, Bucureşti, 1958, 314.
4. S. OERIU, *Biochemie der Kulturpflanzen.* Akad. Verlag, Berlin, 1956, **I**, 214.
5. S. OERIU, V. MOGA, L. BERTESCU, B. MIRCEA, H. BENESCH, M. CRĂCEA, N. CARP, M. TIGHECIU, Studii şi cercetări de chimie, *2*, 263 (1958).
6. S. OERIU, V. MOGA, L. BERTESCO, B. MIRCEA, H. BENESCH, M. CRĂCEA, *Étude chimique et biologique de quelques dérivés extraits de plantes supérieures.* XVI-e Congrès International de Chimie Pure et Appliquée, Paris, juillet, 1957. *Résumés des Communications*, Division de Chimie Organique, **II**, 229.
7. S. OERIU, V. MOGA, L. BERTESCU, B. MIRCEA, H. BENESCH, M. CRĂCEA, N. CARP, M. TIGHECIU, Revue de Chimie, Ed. Acad. R.P.R., **IV**, *1*, 41 (1959).
8. S. OERIU, *Cercetări asupra unor căi de inhibare a dezvoltării rezistenţei microbiene.* Studii şi cercetări de biochimie, *2*, 131 (1960).
9. С. ОЕРИУ, *К изучению некоторых путей торможения процесса развития бактериальной резистентности.* Биохимия АН СССР, *6*, 721 (1960).

ASUPRA CARACTERELOR BIOCHIMICE ALE FRUCTELOR UNOR HIBRIZI VEGETATIVI DE TOMATE

DE

C. BODEA, E. NICOARĂ, C. BILAUS şi T. SALONTAI

În anul 1952 St. Veress şi V. Nilca au efectuat altoiri de tomate galbene din soiul *Galben mare* pe tomate roşii din soiul *Pritchard* ca portaltoi, obţinînd hibrizi vegetativi *). Fructele acestor hibrizi au prezentat în primul an după altoire (F_1) o culoare zmeurie, iar în anii următori au apărut plante cu fructe galbene, zmeurii şi cărămizii. Tendinţă de stabilizare au manifestat plantele cu fructe zmeurii şi galbene, cu slabă pigmentaţie roşie pe partea expusă razelor solare. În anul al 8-lea (F_7) aceste plante sînt pe cale de a-şi stabiliza în asemenea măsură caracterele morfologice şi fenologice, încît pot fi considerate ca linii noi, sub rezerva menţinerii şi definitivării acestor caractere.

Întrucît modificările caracterelor biochimice ce survin în urma hibridării vegetative sînt în general puţin cunoscute, am studiat unele caractere biochimice ale hibrizilor vegetativi sus-menţionaţi ce se găseau în F_7, în comparaţie cu ale altoiului şi portaltoiului. S-a determinat conţinutul în carotinoide, zahăr total, vitamină C şi aciditate totală; prin cromatografie pe hîrtie s-a urmărit raportul între D-glucoză, D-fructoză şi zaharoză, precum şi între acizii malic, citric şi tartric. Analizele au fost executate în luna septembrie pe fructe care se găseau în faza de maturitate tehnică.

Este cunoscut că în tomatele roşii pigmentul principal este licopina, însoţită de cantităţi mici de β-carotină şi, la unele soiuri, de cantităţi mici de licoxantină (3-hidroxi-licopină), licofilă (3,3′-dihidroxi-licopină) şi luteină (xantofilă).

Soiurile de tomate galbene sînt mult mai sărace în carotinoide. Ele conţin ca pigmenţi principali β-carotină şi luteină, alături de cantităţi mici de alte carotinoide, în parte neidentificate. Există deci între tomatele

*) Rezultate experimentale încă nepublicate.

roşii şi cele galbene diferenţe mari în ceea ce priveşte conţinutul calitativ şi cantitativ în carotinoide, aşa că părea interesant să se urmărească modificările ce survin în urma hibridării vegetative.

În tabela 1 este dat conţinutul în principalele carotinoide la soiurile *Pritchard* (portaltoi) şi *Galben mare* (altoi), precum şi la cei doi hibrizi vegetativi, cu fructe zmeurii şi galbene.

Precum se vede din tabelă, fructele hibrizilor vegetativi prezintă un conţinut mai scăzut în pigmenţi în comparaţie cu acelea ale portaltoiului sau altoiului de care se apropie prin culoare, adică hibridul vegetativ cu fructe zmeurii în comparaţie cu soiul *Pritchard* şi hibridul vegetativ cu fructe galbene în comparaţie cu soiul *Galben mare*. Conţinutul în β-carotină

Tabela 1

Conţinutul în carotinoide, mg la 100 g fructe proaspete

Soiul de tomate	β-Carotină	Licopină	Luteină
Pritchard	0,65	6,00	—
Galben mare	0,06	—	0,05
hibrid vegetativ zmeuriu	0,26	4,86	—
hibrid vegetativ galben	—	—	0,04

scade mai mult decît cel în licopină şi luteină. Coloraţia intensă a fructelor zmeurii se datoreşte deci unei modificări a raportului dintre β-carotină şi licopină.

Conţinutul în zahăr total, vitamină C şi aciditatea totală au fost stabilite pe cale chimică, iar raportul dintre D-glucoză, D-fructoză şi zaharoză şi cel dintre acizii malic, citric şi tartric, prin cromatografie pe hîrtie. Rezultatele obţinute prin analizele chimice sînt trecute în tabela 2.

Tabela 2

Conţinutul în zahăr total, vitamină C şi aciditate totală

Soiul de tomate	Zahăr total %	Vitamină C mg/100 g fructe proaspete	Aciditate totală în acid malic %
Pritchard	2,74	23,7	0,41
Galben mare	2,69	29,3	0,37
hibrid vegetativ zmeuriu	4,16	28,7	0,28
hibrid vegetativ galben	3,45	27,1	0,31

Rezultatele expuse în tabela 2 arată că fructele hibrizilor vegetativi sînt, la aceeaşi dată de recoltare, mai bogate în zahăr total şi ceva mai sărace în aciditate totală decît ale partenerilor altoirii. Conţinutul în vitamină C al fructelor hibrizilor vegetativi se situează între acel al fructelor portaltoiului şi al fructelor altoiului, fiind mai apropiat de acesta din urmă.

În ceea ce privește raportul dintre glucide, din cromatograma pe hîrtie (fig. 1) se vede că nu există deosebiri sesizabile între diferitele probe, în toate cazurile predominînd D-glucoza, urmată de D-fructoză și zaharoză.

Din cromatograma pe hîrtie a acizilor (fig. 2) rezultă că nici unele din tomatele analizate nu conțin acid tartric în cantitate sesizabilă. Comparînd mai întîi fructele portaltoiului cu ale altoiului, se constată că primele sînt mai bogate în acid malic și mai sărace în acid citric decît ultimele. La fructele hibrizilor vegetativi se constată un conținut în acid malic ce se situează între cel al fructelor portaltoiului și cel al fructelor altoiului, precum și un conținut în acid citric ceva mai mare decît cel al fructelor partenerului de altoire cu care se aseamănă morfologic. Aceasta înseamnă că la fructele hibrizilor vegetativi s-a produs o deplasare a raportului dintre acizii malic și citric în favoarea acestuia din urmă.

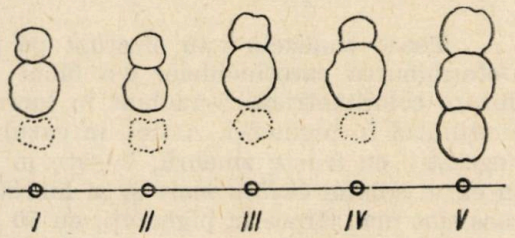


Fig. 1. — Cromatograma glucidelor. Glucidele în ordinea de la start : zaharoză, D-glucoză, D-fructoză.
I = Pritchard; *III* = hibrid vegetativ cu fructe zmeurii;
II = Galben mare; *IV* = „ „ „ „ galbene;
V = martor.

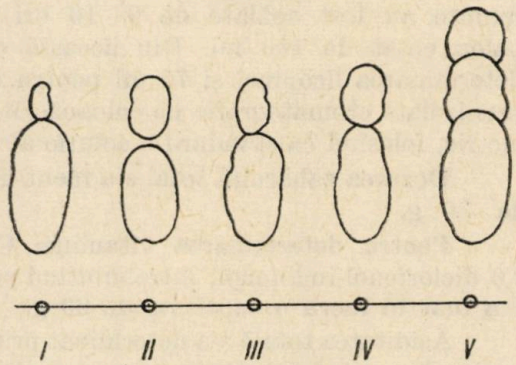


Fig. 2. — Cromatograma hidroxiacizilor. Hidroxiacizii în ordinea de la start : acid malic, citric, tartric.
I = Pritchard; *III* = hibrid vegetativ cu fructe zmeurii;
II = Galben mare; *IV* = „ „ „ „ galbene;
V = martor.

În concluzie, la fructele zmeurii și galbene ale unor hibrizi vegetativi de tomate în F_7 se constată, în comparație cu fructele roșii ale portaltoiului și cele galbene ale altoiului, o scădere a conținutului în carotinoide și o modificare accentuată a raportului dintre β-carotină, licopină și luteină în favoarea celor două din urmă. Datorită acestor modificări, valoarea ca sursă de provitamină A a fructelor hibrizilor vegetativi este mai mică decît aceea a fructelor partenerilor altoirii. Menționăm că într-o lucrare anterioară [1] s-a făcut constatarea asemănătoare că conținutul în β-carotină și criptoxantină al unor hibrizi sexuați de porumb scade în comparație cu acela al părinților, fiind în F_1, la toți hibrizii cercetați, mai mic decît la părinți, astfel că valoarea ca sursă de provitamină A a hibrizilor sexuați este mai mică decît a părinților.

Conținutul de zahăr total al fructelor hibrizilor vegetativi este mai mare, iar cel de acizi totali mai mic decît al fructelor partenerilor altoirii. Se constată o ușoară deplasare a raportului dintre acizii malic și citric în favoarea acestuia din urmă.

Conţinutul în vitamină C al fructelor hibrizilor vegetativi, situat între cele ale fructelor partenerilor altoirii, este mai apropiat de al fructelor altoiului.

PARTEA EXPERIMENTALĂ

Toate analizele s-au efectuat pe probe medii de fructe proaspete. Determinarea carotinoidelor s-a făcut prin separare cromatografică şi dozare colorimetrică. S-au luat în lucru cantităţi diferite, în funcţie de conţinutul în pigmenţi. Astfel, în cazul soiului *Pritchard* şi al hibridului vegetativ cu fructe zmeurii, bogate în pigmenţi, s-a lucrat cu 10 g, iar în cazul soiului *Galben mare* şi al hibridului vegetativ cu fructe galbene, care sînt mai sărace în pigmenţi, cu 50 g.

Materialul proaspăt cîntărit şi bine triturat cu circa jumătate din greutatea sa sticlă pisată, s-a extras la început cu acetonă, apoi cu un amestec de acetonă şi eter de petrol, în care cantitatea acestuia din urmă s-a mărit treptat pînă cînd s-a ajuns numai la eter de petrol. Extractele reunite au fost spălate de 9—10 ori cu apă distilată, aducîndu-se la balon cotat de 100 ml. Din această cantitate s-au luat 25 ml pentru determinarea licopinei şi 75 ml pentru determinarea β-carotinei, care au fost izolate cromatografic pe coloană ($MgO + SiO_2$) şi apoi dozate colorimetric, folosind ca standard o soluţie alcoolică de azobenzen [2].

Dozarea zahărului total s-a făcut după metoda Bertrand, pe o probă de 30 g.

Pentru determinarea vitaminei C s-a utilizat metoda titrării cu 2,6 diclorfenol-indofenol, întrebuinţînd pentru extracţie acid oxalic 1% [3]. S-a luat în lucru o cantitate de 20 g.

Aciditatea totală s-a determinat prin titrare cu NaOH 0,1 n pe o cotă parte din extractul obţinut pentru determinarea zahărului, înainte de defecare.

Separarea glucidelor (D-glucoză, D-fructoză şi zaharoză) şi a hidroxiacizilor (malic, citric şi tartric) s-a făcut prin cromatografie pe hîrtie. Pentru depectinizare, fructele s-au tratat cu un volum dublu de alcool etilic. Din extractul obţinut prin filtrare s-au aplicat pe hîrtia cromatografică cîte trei picături pentru glucide şi aceeaşi cantitate pentru hidroxiacizi. Irigarea (durata 48 ore) s-a făcut cu un amestec de butanol, acid acetic glacial şi apă [4] iar developarea cu un amestec de anilină, difenilamină şi acid fosforic în cazul glucidelor [5], şi cu albastru de bromfenol în cazul hidroxiacizilor [6].

Prezentată la redacţie la 22 noiembrie 1960

Institutul agronomic „Dr. P. Groza", Catedra de biochimie, Cluj

О БИОХИМИЧЕСКОЙ ХАРАКТЕРИСТИКЕ ПЛОДОВ НЕКОТОРЫХ ВЕГЕТАТИВНЫХ ГИБРИДОВ ТОМАТОВ

РЕЗЮМЕ

Авторы определили содержание каротиноидов, общее содержание сахара, общую кислотность и витамин С и проследили методом хроматографии на бумаге отношение между D-глюкозой, D-фруктозой и сахарозой, а также между яблочной, лимонной и винной кислотами в плодах некоторых вегетативных гибридов томатов, полученных прививкой сорта „Галбен маре" на сорт „Причард", по сравнению с плодами подвоя и привоя.

У плодов вегетативных гибридов было констатировано снижение содержания каротиноидов и значительное изменение отношения между β-каротином, ликопином и лутеином, в смысле увеличения количества последних двух; в результате этого плоды вегетативных гибридов представляют меньшее значение как источник провитамина А, чем плоды подвоя и привоя.

Общее содержание сахара в плодах вегетативных гибридов больше, а общее содержание кислот меньше, чем в плодах подвоя и привоя.

В случае глицидов, не отмечалось какого-либо изменения отношения между сахарозой, D-глюкозой и D-фруктозой; во всех случаях преобладала D-глюкоза.

Что касается содержания оксикислот, было констатировано некоторое изменение отношения между яблочной и лимонной кислотами в сторону последней.

С точки зрения содержания витамина С в плодах, гибриды занимают промежуточное место между подвоем и привоем, приближаясь к последнему.

ОБЪЯСНЕНИЕ РИСУНКОВ

Рис. 1. — Хроматограмма глицидов. Глициды в следующем порядке: сахароза, D-глюкоза, D-фруктоза. I — Причард; II — Галбен маре; III — вегетативный гибрид с малиновыми плодами ; IV — вегетативный гибрид с желтыми плодами; V — контроль.

Рис. 2. — Хроматограмма оксикислот. Оксикислоты в следующем порядке: яблочная, лимонная, винная. I — Причард; II — Галбен маре; III — вегетативный гибрид с малиновыми плодами; IV — вегетативный гибрид с желтыми плодами; V — контроль.

SUR LES CARACTÈRES BIOCHIMIQUES DES FRUITS DE CERTAINS HYBRIDES VÉGÉTATIFS DE TOMATES

RÉSUMÉ

Des recherches portant sur les fruits de certains hybrides végétatifs de tomates, obtenus par greffe de la variété «Grand jaune» sur la variété «Pritchard», ont consisté à déterminer la teneur en substances caroténoïdes,

en sucre total, ainsi que l'acidité totale et le taux de vitamine C, et à suivre, par la méthode chromatographique sur papier, le rapport entre D-glucose, D-fructose et saccharose ainsi que le rapport entre les acides malique, citrique et tartrique de ces fruits. Les déterminations ont été faites comparativement, entre les fruits hybrides et ceux des partenaires de la greffe.

Dans les fruits des hybrides végétatifs, la teneur en caroténoïdes baisse et le rapport entre β-carotène, licopine et lutéine est fort modifié, en faveur des deux dernières substances. De ce fait, les fruits des hybrides végétatifs présentent moins d'intérêt, en tant que source de provitamine A, que ceux des partenaires de la greffe.

La teneur en sucre total des fruits des hybrides végétatifs est plus élevée et celle en acides totaux est plus réduite que celles des fruits des partenaires de la greffe.

En ce qui concerne les glucides, on ne constate pas de modifications appréciables du rapport entre saccharose, D-glucose et D-fructose, le taux du D-glucose étant prédominant, dans tous les cas.

En ce qui concerne les hydroxyacides, on constate un léger déplacement du rapport entre les acides malique et citrique, en faveur de ce dernier.

Au point de vue de la teneur en vitamine C des fruits, les hybrides se placent entre les deux partenaires de la greffe mais sont toutefois plus proches du greffon.

EXPLICATION DES FIGURES

Fig. 1. — Chromatogramme des glucides. Les glucides, dans l'ordre du start : saccharose, D-glucose, D-fructose. *I* = Pritchard ; *II* = Grand jaune ; *III* = hybride végétatif aux fruits de couleur framboise ; *IV* = hybride végétatif aux fruits jaunes ; *V* = témoin.

Fig. 2. — Chromatogramme des hydroxyacides. Les hydroxyacides, dans l'ordre du start : acide malique, ac. citrique, ac. tartrique. *I* = Pritchard ; *II* = Grand jaune ; *III* = hybride végétatif aux fruits de couleur framboise ; *IV* = hybride végétatif aux fruits jaunes ; *V* = témoin.

BIBLIOGRAFIE

1. C. BODEA, E. NICOARĂ, Studii şi cercetări de agronomie, Cluj, **VIII**, *3—4*, 195 (1957).
2. L. ZECHMEISTER, *Carotinoide*. J. Springer, Berlin, 1934, 88.
3. А. И. ЕРМАКОВ и сотрудники, *Методы биохимического исследования растений*. Государст. издат. сельскохоз. лит., Москва, 1952, 89.
4. CHR. IORDAN şi colaboratori, Der Züchter, **27**, 69 (1957).
5. L. M. HAIS, K. MACEK, *Cromatografia pe hîrtie*, Ed. tehnică, Bucureşti, 1960, 732.
6. H. F. LINSKENS, *Papierchromatographie in der Botanik*. J. Springer, Berlin Göttingen-Heidelberg, 1955.

NEVOIA DE PROTEINE A OMULUI ÎN MUNCĂ

IV. MECANISMUL NEGATIVĂRII BILANȚULUI AZOTAT SUB INFLUENȚA EFORTULUI

DE

IANCU GONȚEA, S. DUMITRACHE și PARASCHIVA ȘUȚESCU

În cercetări anterioare [3], [4] efectuate pe bărbați tineri am constatat că activitatea musculară intensă provoacă negativarea unui bilanț azotat în prealabil echilibrat prin aport constant de proteine (1 g pe kilocorp din care 35% de origine animală) și prin menținerea subiecților în aceleași condiții de mediu și de muncă sedentară. Creșterea eliminărilor de azot peste cantitatea ingerată s-a realizat nu numai prin pierderea acestui element cu sudoarea abundentă din cursul activității musculare, ci și prin accentuarea azoturiei. Pe baza acestor constatări am formulat următoarele concluzii :

— Rația de un g proteine pe kilocorp este suficientă pentru menținerea echilibrului azotat la bărbați care exercită profesiuni de tip sedentar, dar este neadecvată pentru cei care, desfășurînd activitate musculară intensă, cheltuiesc peste 3 300 de calorii pe zi.

— Creșterea cheltuielii de energie și intensificarea catabolismului glucido-lipidic din cursul efortului, se însoțesc în mod inevitabil de accentuarea metabolismului azotat.

Prima concluzie, cu caracter practic, care se referă la nevoia de proteine a omului este valabilă indiferent de mecanismul prin care pierderile de azot au depășit cantitatea ingerată. În schimb concluzia teoretică cu privire la metabolismul azotului în cursul activității musculare este discutabilă, întrucît creșterea azoturiei poate fi provocată și de alte cauze, în afara intensificării catabolismului proteic propriu-zis.

Pe de o parte W. Knoll [6], F. A. Korjakina și N. A. Krestownikof [7] ca și A. B. Light și C. R. Warren [8] au observat apariția albuminuriei în cursul a diferite competiții sportive și, în unele cercetări mai vechi [1], acest fenomen s-a întîlnit în perioadele de efort fizic intens la majoritatea subiecților (75—88%). Pe de altă parte A. Jung [5],

I. Șulutco [9], W. Wilson și colaboratori [10] au găsit creșterea cantității de amoniac din urină, determinată de nevoia eliminării excesului de acizi apăruți în timpul contracțiilor musculare susținute. Apoi unele cercetări [2], [7] au arătat că activitatea musculară intensă mărește creatinuria și provoacă apariția creatinei în urină.

Creșterea eliminării de amoniac și de corpi creatinici și mai ales apariția de albumină în urină măresc azoturia, însă aceste substanțe azotate nu reprezintă mărturia directă a utilizării aminoacizilor în procesele metabolice care stau la baza contracției musculare. Pentru a verifica concluzia noastră după care creșterea cheltuielii de energie în cursul efortului muscular se însoțește de intensificarea catabolismului protidic, a apărut necesar ca pe de-o parte să controlăm prezența albuminei în urină, pe de altă parte, paralel cu determinarea azoturiei totale, să studiem și unele forme de eliminare a azotului.

IPOTEZA DE LUCRU ȘI METODA DE CERCETARE

Pornind de la faptul că produsul cel mai complet oxidat rezultat din catabolismul proteic este ureea, am admis că studiul variațiilor în eliminarea acestei substanțe reprezintă cel mai semnificativ indicator al consumului de amino-acizi. În felul acesta dacă efortul muscular accentuează catabolismul azotat însemnează că eliminarea de uree trebuie să crească paralel cu azotul neproteic total. Apoi, ținînd seama că în timpul activității fizice apare un surplus de valențe acide, care trebuie eliminate prin urină, am socotit util să vedem în ce măsură acest fapt se repercutează asupra metabolismului azotat. Pentru aceasta am determinat atît aciditatea urinei cît și cantitatea de azot amoniacal.

Modul de organizare a experiențelor și metoda de lucru au fost descrise cu ocazia publicării altor rezultate [2], [3]. Cercetările de față s-au efectuat pe 8 bărbați sănătoși (în medie 27 ani și 68 kg) internați în laboratorul catedrei și alimentați cu un meniu fixat pe 4 zile, care s-a repetat de 6 și uneori de 8 ori, durata unei observații fiind de 24 sau de 32 zile. Dieta zilnică asigura un aport proteic constant (1 g pe kilocorp din care 33—35% erau de origine animală) și cantități adecvate de elemente minerale și de vitamine. Valoarea calorică a rației alimentare a fost cu 10% mai mare decît cheltuiala de energie, determinată de repetate ori (metoda Douglas-Haldane), atît în perioadele de efort muscular cît și în perioadele de activitate sedentară. Activitatea fizică s-a efectuat la cicloergometru și a constat din 6—7 reprize, a cîte 20 de minute de efort (400—900 kgm/min) separate prin pauze de cîte 30 min.

După 12 zile de activitate sedentară (*perioada anteefort*) în care avea loc stabilizarea bilanțului azotat, urma *perioada de efort* la temperatura obișnuită (20 ± 2°C) a cărei durată a fost de 4 zile. După aceasta se relua pentru timp de 8 zile forma inițială de activitate, urmărindu-se modificările din perioada *postefort*. În scopul de a se vedea influența pierderilor cutanate de apă și de sare asupra excreției prin urină a substanțelor azotate studiate, în 4 observații după aceste 8 zile subiecții au

repetat o nouă perioadă de efort (4 zile), dar de data aceasta în condiții de microclimat cald (35 ± 2°C).

Tabela 1

Cheltuiala de energie și cantitatea de travaliu exterior produs

Observația			Cheltuiala de energie				Travaliu exterior	
Nr.	Nume	Vîrsta ani	Greutate kg	În activitate sedentară Cal/24 h	În perioada de efort Cal/min	În perioada de efort Cal/24 h	kgm/min	kgm/zi
			a) La temperatura obișnuită (20±2°C)					
I	S.D.	28	58,6	2 286	9,17	3 396	460	77,975
II	C.B.	28	80,8	2 690	9,82	4 081	610	108,800
III	G.N.	44	78,8	2 288	9,26	3 542	530	86,920
IV	D.S.	29	62,4	2 410	9,48	3 529	653	77 714
V	N.C.	28	62,3	2 360	7,96	3 278	650	77 756
VI	L.G.	21	74,5	2 638	10,31	3 856	896	107 720
VII	A.I.	21	62,5	2 539	8,20	3 755	753	90,432
VIII	S.F.	21	60,0	2 582	8,04	3 671	701	84,120
Media		27	67,5	2 474	9,03	3 638,5	656,6	88,928
			b) In microclimat cald (35± 2°C)					
IX	N.C.	28	62,3	2 360	9,17	3 563	653	77,857
X	L.G.	21,5	74,5	2 638	11,24	4 115	887	106,835
XI	A.I.	21	62,5	2 539	8,86	3 892	720	86,742
XII	S.F.	21	60,0	2 582	8,45	3 768	670	80,054
Media		23	64,8	2 529,7	9,43	3 834,5	732,5	87,872

În tabela 1 se arată atît cheltuiala de energie din ambele forme de activitate, cît și cantitatea de travaliu exterior produs pentru fiecare observație în parte. S-a dozat azotul total (metoda Kjeldahl) atît în alimentele consumate, cît și în fecale, urină și în sudoarea recoltată de pe trunchi și de pe membre în manșoane de nylon. Cantitatea de sudoare eliminată s-a aflat prin studiul bilanțului *hidric* și al ventilației pulmonare.

În urină s-a controlat prezența albuminei (acid tricloracetic) și pe lîngă azotul neproteic total s-a determinat ureea (cu hipobromit), amoniacul (prin distilare) și aciditatea prin titrare cu NaOH sol N/10.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

a) Albuminuria de efort. În cercetările noastre *activitatea musculară nu a provocat apariția de proteine în urină la nici un subiect.* Acest fapt este în dezacord cu constatările făcute de numeroși autori la sportivi în

cursul a diferite competiții. Însă activitatea musculară desfășurată de subiecții noștri nu a avut caracter de competiție. Studiind nevoia de proteine a omului în muncă, noi am căutat ca efortul fizic din cursul unei zile să fie comparabil cu cel realizat de muncitorii manuali, care practică profesiuni cu cheltuială medie de energie (3 400—3 600). De aceea activitatea musculară a fost de intensitate potrivită (400—900 kgm) și s-a realizat în mod intermitent (raportul efort/pauză fiind de 1/1,5) întinzîndu-se pe 6—7 ore.

Neapariția albuminei în urină în perioada de efort arată că negativarea bilanțului azotat sub influența efortului nu s-a datorat nici măcar în parte eliminării de proteine pe cale renală.

b) Influența activității musculare asupra azotului ureic eliminat prin urină. În tabela 2 sînt consemnate valorile medii ale cantităților de azot

Tabela 2

Influența efortului muscular asupra azotului total și azotului ureic eliminat prin urină

Observația		Perioada anteefort			Perioada de efort			Perioada postefort		
Nr.	Nume	Azot total g/24 h	Azot ureic g/24 h	Azot ureic N total %	Azot total g/24 h	Azot ureic g/24 h	Azot ureic N total %	Azot total g/24 h	Azot ureic g/24 h	Azot ureic N total %
				a) La temperatura obișnuită (20 ± 2°C)						
I	S.D.	8,17	6,18	75,6	9,80	7,50	76,5	7,41	5,64	76,2
II	C.B.	9,47	7,89	83,2	11,74	9,51	81,0	10,12	7,90	78,1
III	G.N.	9,50	7,49	78,8	10,48	8,11	77,4	9,21	6,81	73,9
IV	D.S.	8,78	7,55	86,0	9,50	8,44	88,9	8,55	7,49	87,6
V	N.C.	8,17	6,66	81,5	8,98	7,70	85,7	8,79	7,25	82,5
VI	L.G.	8,81	6,84	77,7	11,72	9,96	85,0	9,72	7,95	81,8
VII	A.I.	8,87	7,05	79,5	9,02	7,70	85,3	8,69	7,44	85,6
VIII	S.F.	8,79	6,16	70,1	9,19	7,32	79,6	8,00	6,66	83,3
Media		8,82	6,98	79,05	10,05	8,28	82,42	8,81	7,14	81,12
				b) In microclimat cald (35 ± 2°C)						
IX	N.C.	8,79	7,25	82,5	9,09	7,60	83,6	8,90	7,34	82,5
X	L.G.	8,88	7,09	79,9	12,05	10,57	87,7	9,54	7,62	79,8
XI	A.I.	8,27	7,20	87,0	10,39	9,23	88,9	9,38	7,43	88,7
XII	S.F.	9,15	7,80	85,3	8,51	8,20	86,3	7,78	6,71	86,2
Media		8,77	7,33	83,67	10, 26	8,90	86,6	8,65	7,27	84,30
Media generală		8,80	7,10		10,12	8,49		8,76	7,26	

ureic eliminat prin urină comparativ cu azoturia totală pentru fiecare perioadă de studiu (anteefort, efort și postefort) și pentru fiecare subiect separat.

După cum se observă din datele înscrise în această tabelă și din figura 1, trecerea de la activitatea de tip sedentar (perioada anteefort)

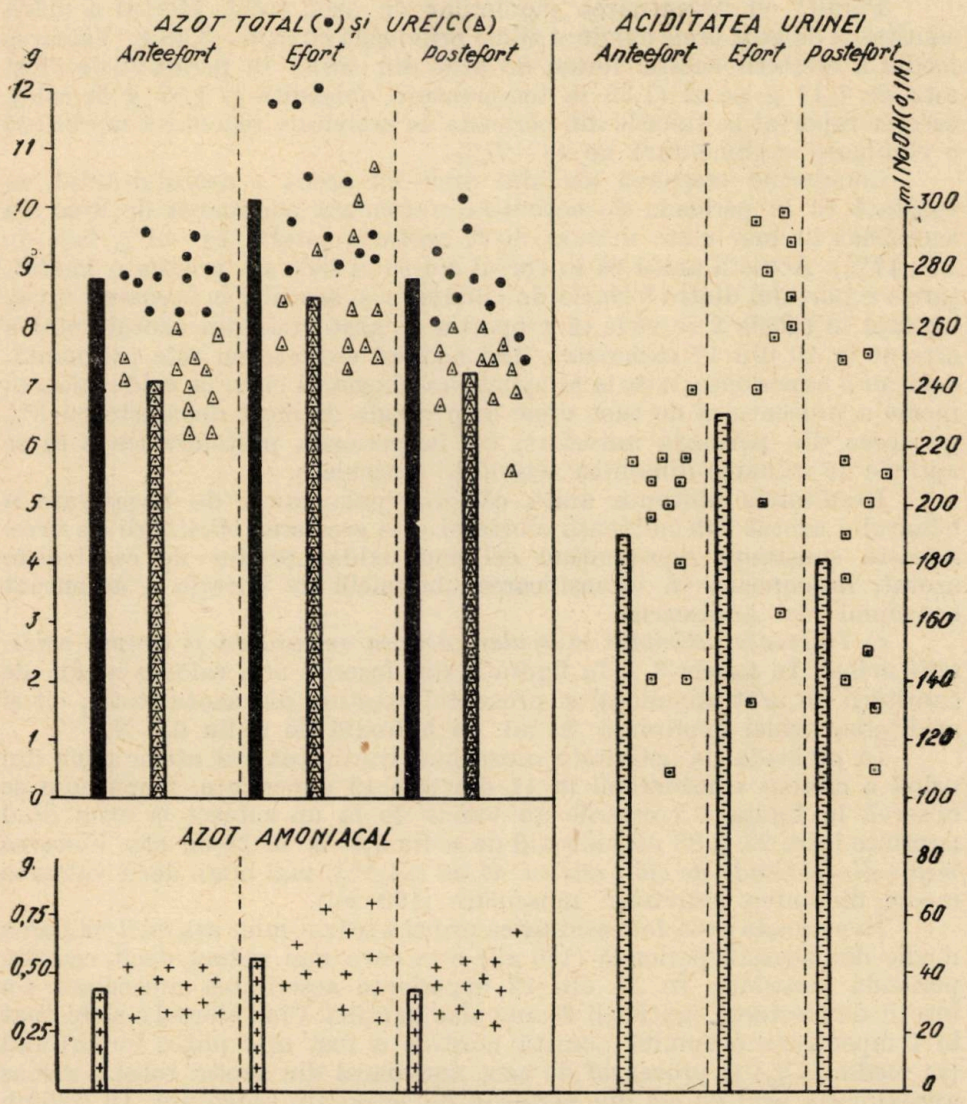


Fig. 1. — Influența efortului asupra eliminării renale de azot (total, ureic și amoniacal) și asupra acidității urinei (valorile individuale și mediile lor).

la activitatea musculară a provocat creșterea azoturiei la toți subiecții și în toate experiențele, atît la temperatura obișnuită cît și la cald. Surplusul de azot pierdut zilnic în perioada de efort a variat între 0,15 și 3,17 g cu o valoare medie generală de 1,31 g pe zi (1,23 la temperatura

obișnuită și 1,49 la cald). Aceasta reprezintă 14—17% în plus peste eliminările din perioada de activitate sedentară ante-și postefort.

Paralel cu accentuarea pierderilor de azot total, efortul a mărit cantitatea de azot ureic eliminat zilnic prin urină cu 0,35—3,48 g. Valoarea medie a creșterii acestei forme de azot din urină în perioada de efort este de 1,47 g pe zi (1,30 la temperatura obișnuită și 1,57 g la cald), ceea ce raportat la valorile din perioada de activitate sedentară reprezintă o eliminare suplimentară de 18—21%.

Comparînd creșterea azotului ureic cu aceea a azotului total, se constată că în perioada de activitate musculară eliminarea de uree s-a accentuat în mai mare măsură decît azoturia totală (18—21% față de 14—17%). Aceasta arată că în cursul efortului fizic s-a produs o modificare a raportului dintre formele de eliminare a azotului în favoarea ureei. De fapt în tabela 2 se vede că proporția de azot ureic din azotul total a crescut în 10 din 12 experiențe însă această creștere nu este pregnantă, decît în 5 experiențe. Atît la temperatura obișnuită cît și la cald valoarea medie a procentului de azot ureic în perioada de efort depășește cu 3% pe aceea din perioada anteefort, iar în perioada postefort tinde să se apropie de valoarea dinaintea activității musculare.

Rezultatele obținute arată că principala cauză de negativare a bilanțului azotat sub influența efortului este creșterea eliminării de uree. Această substanță reprezentînd cel mai oxidat produs de catabolism azotat, însemnează că intensificarea cheltuielii de energie a accentuat consumul de aminoacizi.

c) *Influența activității musculare asupra amoniuriei și asupra aciditățiii urinei.* În tabela 3 și în figura 1 sînt înscrise atît valorile medii ale cantității de azot amoniacal și procentul acestuia din azotul total, cît și aciditatea urinei exprimată în ml de hidroxid de sodiu 0,1 N.

În perioada de activitate musculară cantitatea valențelor acide din urină a crescut considerabil în 11 din cele 12 experiențe. După cum se observă în figura 1 creșterile au variat de la un subiect la altul fiind cuprinse între 22 și 88 ml hidroxid de sodiu 0,1 N în 24 de ore. *Valoarea medie din perioada de efort este cu 46 ml* (24,4%) mai mare decît valoarea medie dinaintea activității musculare (190 ml).

În perioada postefort aciditatea urinei a scăzut mult așa încît valoarea medie din această perioadă (186 ml) este ceva mai redusă decît cea din perioada anteefort. În 10 din 12 experiențe activitatea musculară s-a însoțit de creșterea cantității de amoniac în urină. Cînd efortul s-a efectuat la temperatura obișnuită această creștere a fost mai puțin importantă (în medie 17%) și procentul de azot amoniacal din azotul total a rămas aproximativ egal cu cel din perioada de activitate sedentară. În schimb cînd activitatea musculară s-a petrecut în microclimat cald, amoniuria a depășit cu 43% valoarea medie dinaintea perioadei de efort. În aceste condiții azotul amoniacal a crescut în mai mare măsură decît azoturia totală, ceea ce a făcut ca proporția sa față de azotul total să se ridice de la 5,4% în perioada anteefort la 7% în perioada de efort.

Activitatea musculară mărind azoturia cu 14—17% și procentul de azot amoniacal (față de cel total) fiind același sau ceva mai mare decît

Tabela 3

Influența activității musculare asupra amoniuriei (N amoniacal) și asupra aciditățiî urinei (ml hidroxid de sodiu 0,1 N) din 24 ore

Observația		Perioada anteefort			Perioada de efort			Perioada postefort		
Nr.	Nume	N amoniacal		Aciditate	N amoniacal		Aciditate	N amoniacal		Aciditate
		g/24 h	N total %		g/24 h	N total %		g/24 h	N total %	
a) La temperatura obișnuită (20 ± 2°C)										
I	S.D.	0,29	3,6	215	0,45	4,6	295	0,31	4,2	250
II	C.B.	0,48	5,1	197	0,57	4,9	240	0,45	4,5	192
III	G.N.	0,55	5,8	204	0,66	6,3	258	0,54	5,8	202
IV	B.S.	0,30	3,4	210	0,28	3,0	298	0,32	3,7	254
V	N.C.	0,35	4,2	239	0,42	4,7	270	0,45	5,2	216
VI	L.G.	0,43	4,8	218	0,31	2,7	290	0,45	4,7	209
VII	A.I.	0,32	3,6	182	0,48	4,8	205	0,43	5,2	141
VIII	S.F.	0,51	5,8	142	0,58	6,3	135	0,50	6,3	110
Media		0,40	4,54	201	0,47	4,66	249	0,43	4,95	197
b) În microclimat cald (35 ± 2°C)										
IX	M.C.	0,43	5,2	216	0,47	5,1	260	0,30	3,4	211
X	L.G.	0,45	4,7	209	0,79	8,9	278	0,24	2,5	174
XI	A.I.	0,47	5,5	141	0,60	5,7	165	0,53	6,4	151
XII	S.F.	0,50	6,3	110	0,78	8,2	142	0,66	8,5	126
Media		0,46	5,42	169	0,66	6,97	211	0,43	5,20	165
Media generală		0,42		190	0,59		236	0,43		186

în perioada de activitate sedentară, însemnează că efortul fizic intensifică amoniogeneza și aceasta reprezintă o altă cauză care contribuie la accentuarea pierderilor de azot și la negativarea bilanțului în acest element.

Creșterea cantității absolute de amoniac concomitent cu ridicarea conținutului urinei în valențe acide se încadrează în ideea că *hiperamoniuria de efort* este determinată de excesul de acizi apăruți în cursul activității musculare. Cum nu s-a observat un paralelism constant între creșterea aciditățiî urinei și intensitatea hiperamoniuriei, nu este exclus ca eliminarea suplimentară de amoniac să se producă și prin alt mecanism decît salificarea acizilor. Este însă de remarcat faptul că la cald toți subiecții au eliminat cantități mai mari de amoniac decît au eliminat pentru aceeași cheltuială de energie la temperatura obișnuită. Dat fiind că aciditatea urinei a fost asemănătoare, accentuarea amoniuriei la cald s-ar putea să fie consecința pierderii de alcalii cu sudoarea abundentă eliminată cînd activitatea musculară s-a petrecut într-un mediu cu temperatura ridicată.

★

Din cercetările noastre rezultă că activitatea musculară de intensitate mare și efectuată intermitent nu provoacă apariția de albumină în urina adultului sănătos, în schimb mărește cantitatea de uree și de amoniac din urină. În ce măsură contribuie fiecare din aceste substanțe la negativarea bilanțului azotat din perioada de activitate musculară reiese din proporția pe care ele o reprezintă din azotul total și din variațiile acestui procent sub influența efortului fizic. Ureea formînd 70—90% din totalul azotului urinar și în timpul efortului muscular acest procent crescînd, însemnează că principalul mecanism prin care bilanțul azotului se negativează este intensificarea consumului de aminoacizi și a ureogenezei. Amoniacul, reprezentînd numai 3—6% din azotul total și acest procent rămînînd aproape același în munca la temperatura obișnuită, participă în mult mai mică măsură la ruperea echilibrului azotat, decît ureea. În condițiile unei alimentații raționale riguros controlate, noi nu am găsit că efortul fizic provoacă eliminări de amoniac în cantitățile mari semnalate de alți autori. Numai cînd activitatea musculară s-a produs la temperaturi ridicate și s-a însoțit de transpirații profuze, amoniuria a fost mai pronunțată.

CONCLUZII

În cercetări anterioare am constatat că activitatea musculară provoacă negativarea unui bilanț azotat în prealabil echilibrat și stabilizat prin aport constant de proteine (1 g pe kilocorp) și prin menținerea acelorași condiții de mediu și de muncă. Pentru a vedea prin ce mecanism se ajunge ca pierderile de azot să depășească (valoarea) cantitatea ingerată, paralel cu dozarea azotului total din urină am cercetat prezența albuminuriei de efort, ureea (principalul produs final de catabolism proteic), amoniacul (ca substituent de alcalii) și aciditatea urinei.

Cercetările s-au întreprins pe 8 subiecți (în medie 27 ani și 68 kg) internați la catedră și alimentați cu un meniu fixat pe 4 zile care s-a repetat de 6 sau de 8 ori (24 sau 32 zile). Dieta zilnică furniza 1 g proteine pe kilocorp (33—35% de origine animală) și cantități adecvate de elemente minerale și de vitamine. Valoarea calorică a rației a fost cu 10% mai mare decît cheltuiala de energie stabilită prin determinarea consumului de oxigen (Douglas-Haldane) atît în perioada de efort, cît și în cele de activitate sedentară. Activitatea fizică efectuată la cicloergometru a constat din 6—7 reprize a cîte 20 min efort (400—900 kgm/min) separate prin pauze de cîte 1/2 oră.

a) În dezacord cu unele date din literatură în condițiile noastre de cercetare activitatea musculară nu a provocat apariția de albumină în urină la nici un subiect.

b) În perioada de efort (4 zile) azoturia totală a depășit cu 14—17% cantitatea eliminată în perioada de activitate sedentară, iar azotul ureic a crescut cu 18—21%, ceea ce arată că în cursul activității musculare s-a produs o modificare a raportului dintre formele de eliminare ale

azotului în favoarea ureei, care este cel mai oxidat produs de catabolism aminoacidic.

c) Activitatea musculară a provocat creşterea cu 24,4% a cantităţii de acizi din urină (de la 190 la 236 ml NaOH n/10) şi ridicarea amoniuriei cu 17% cînd efortul s-a executat la temperatura obişnuită (20 ± 2°C) şi cu 43% cînd activitatea fizică s-a petrecut în microclimat cald (35±2°C), cu toate că în aceste condiţii de mediu aciditatea nu a fost mai mare.

d) Ţinînd seama că azotul ureic a reprezentat 70—90% din azotul total şi în cursul activităţii musculare acest procent a crescut, principala cauză de negativare a bilanţului azotat sub influenţa efortului este intensificarea catabolismului aminoacidic, la care se adaugă accentuarea amoniogenezei, cu rol mai important în condiţii de mediu cu temperaturi ridicate.

Prezentată la redacţie la 21 octombrie 1960

Catedra de igiena alimentaţiei
I.M.F., Bucureşti

ПОТРЕБНОСТЬ В БЕЛКАХ РАБОТАЮЩЕГО ЧЕЛОВЕКА

IV. МЕХАНИЗМ НЕГАТИВИРОВАНИЯ БАЛАНСА АЗОТА В РЕЗУЛЬТАТЕ УСИЛИЯ

РЕЗЮМЕ

В ряде предыдущих работ авторы констатировали, что переход от сидячего образа жизни к мышечной деятельности приводит к негативированию ранее уравновешенного и стабилизированного баланса азота. Для выяснения механизма этого негативирования, параллельно с определением общего содержания азота в моче, была исследована альбуминурия как следствие усилия, содержание мочевины, аммиака, а также кислотность мочи.

Исследования проводились на 8 мужчинах, интернированных в лаборатории кафедры в течение 24 или 32 дней со строго контролируемым режимом питания, дающем 1 г белков на 1 кг живого веса и соответствующее количество калорий, минеральных элементов и витаминов. Физическая деятельность выполнялась на циклоэргометре (80,000—100,000 кгм/день, по 6—7 раз), в течение 4 дней при обычной температуре, а иногда в течение еще 4 дней при повышенной температуре (35 ± 2°C).

а). При данных условиях опыта мышечная деятельность не вызывала появления белка в моче ни у одного из пациентов.

б). В период усилия, общая азотурия превышала на 14—17% количество, выделяемое в период сидячего образа жизни, тогда как содержание мочевинного азота возросло на 18—21%; это указывает на то, что во время мышечной деятельности произошло изменение

отношения между формами выделения азота, в сторону увеличения количества мочевинного азота.

в). Мышечная деятельность при обычной температуре вызвала повышение на 24,4% количества кислот в моче, а также повысила аммониурию на 17% и повысила на 43%, если физическая деятельность имела место в теплом микроклимате.

г). Принимая во внимание, что мочевинный азот представлял 70—90% общего количества азота и что во время мышечной деятельности этот процент возрастал, главной причиной негативирования баланса азота под влиянием усилия является интенсификация аминокислотного обмена, к которому следует добавить повышение выделения аммиака.

ОБЪЯСНЕНИЕ РИСУНКОВ

Рис. 1. — Влияние усилия на выделение через почки азота (общего, мочевинного и аммиачного), а также на кислотность мочи (индивидуальные значения и их среднее).

LE BESOIN DE PROTÉINES DE L'HOMME AU COURS DU TRAVAIL

IV. MÉCANISME DE LA NÉGATIVATION DU BILAN AZOTÉ PAR SUITE DE L'EFFORT

RÉSUMÉ

Dans des recherches antérieures, les auteurs ont établi que le passage de la vie sédentaire à l'activité musculaire négative un bilan azoté, préalablement équilibré et stabilisé. Pour étudier le mécanisme de ce phénomène, ils ont contrôlé, parallèlement au dosage de l'azote total des urines, la présence de l'albuminurie d'effort, l'urée, l'ammoniaque et l'acidité urinaires.

Les recherches ont porté sur 8 hommes, hospitalisés dans l'enceinte du laboratoire de la clinique, pendant 24 à 32 jours, et recevant une nourriture rigoureusement contrôlée, leur fournissant un gramme de protéines par kg de poids corporel et une ration suffisante de calories, éléments minéraux et vitamines. L'activité physique a été effectuée au cyclo-ergomètre (80 000—100 000 kgm par jour, en 6 à 7 reprises) pendant 4 jours à la température ordinaire et 4 autres jours à une température élevée ($35 \pm 2°C$).

a) Dans les conditions exposées ci-dessus, l'activité musculaire n'a entraîné, chez aucun des sujets, l'apparition d'albumine dans les urines.

b) Au cours de la période d'effort, l'azoturie totale a surpassé, de 14 à 17%, la quantité éliminée pendant la période d'activité sédentaire

et l'azote uréique a augmenté de 18—21%, ce qui démontre que, pendant l'activité musculaire, le rapport entre les différentes formes d'élimination de l'azote est modifié en faveur de l'urée.

c) L'activité musculaire a déterminé une augmentation de la quantité des acides urinaires — de 24,4% — ainsi qu'une hausse du taux d'ammoniurie — de 17%, pour l'effort exécuté à la température ordinaire, et de 43%, pour l'activité physique dans un microclimat chaud.

d) Du fait que l'azote uréique a représenté les 70 à 90% de l'azote total et que, pendant l'activité musculaire, ce pourcentage a augmenté, il ressort que la principale raison, pour laquelle le bilan azoté devient négatif par suite de l'effort, est l'intensification du catabolisme des acides aminés, à laquelle s'ajoute l'accentuation de l'ammoniogénèse.

EXPLICATION DES FIGURES

Fig. 1. — Influence de l'effort sur l'élimination rénale d'azote (total, uréique et ammoniacal) et sur l'acidité urinaire (valeurs individuelles et moyennes).

BIBLIOGRAFIE

1. BURKLE DE LA CAMP, Munch. med. Wschr., **70**, 664 (1923).
2. GONTEA I., ȘUȚESCU P., Bull. șt. Acad. R.P.R., secția șt. med., **6**, *4*, 1009 (1954).
3. GONTEA I., ȘUȚESCU P., DUMITRACHE S., Igiena, *4*, 297 (1959).
4. GONTEA I., ȘUȚESCU P., DUMITRACHE S., Igiena, *2*, 111 (1960).
5. JUNG A., Schweiz. Med. Wschr., **62**, 1178 (1932).
6. KNOLL W., Arbeitsphysiol., **3**, 409 (1930).
7. KORJAKINA F. A., KRESTOWNIKOF N. A., Arbeitsphysiol., **2**, 421 (1930).
8. LIGHT A. B., WARREN C.R., Amer. J. Physiol., **117**, 658 (1936).
9. SULUTKO I., Arbeitsphysiol., **5**, 162 (1932).
10. WILSON W., LONG. W. L., THOMPSON H. C., THURLOW S., J. Biol. Chem., **65**, 755 (1925).

INFLUENȚA VITAMINELOR ASUPRA DINAMICII COMPUȘILOR FOSFORAȚI AI HEMATIILOR

DE

ALEX. BATCU și ASPAZIA BUSUIOC

Prezența fosfaților în hematii și modificarea conținutului lor atunci cînd hematiile sînt scoase din organism și separate de plasmă ne indică existența unui metabolism propriu al hematiei anucleate. În hematii nu se găsesc numai fosfați, ci și un întreg echipament enzimatic. Încă I. R o c h e [7] a arătat că în eritrocitele omului se găsește o fosfatază deosebită de cea din leucocite și plasmă. O. M e y e r h o f f [5], constatînd că în eritrocite glucoza se transformă în acid lactic, presupune că în globulele roșii se găsește sistemul fermentativ răspunzător de aceste transformări. Acidul piruvic este metabolizat de către eritrocite, fosfații accelerează, iar tiamina, cocarboxilaza și oxigenul nu măresc această metabolizare.

Prezența vitaminelor este astăzi pe deplin dovedită la nivelul hematiilor anucleate. Ca și în cazul fosfaților, sînt deosebiri între formele și cantitățile în care se află vitaminele în plasmă și globule. Vitamina B_1 se află și în plasmă și în globule, dar pe cînd în plasmă se găsește numai vitamina B_1 simplă, în globule ea apare într-o formă fosforilată, cocarboxilaza. Vitamina B_2 se află în cantitate mai mare în hematii decît în plasmă, dar mai puțin decît în plachete sau leucocite. Acidul pantotenic, constituent al coenzimei A, se găsește repartizat în plasmă și globule. Vitamina PP se află aproape în întregime în eritrocite, iar din totalul de nicotinamidă numai o optime este în stare liberă, restul fiind sub formă de DPN și TPN. Este de menționat că în pelagră cantitatea de vitamină PP din hematii se modifică foarte puțin.

După cum se vede, vitaminele cu activitate metabolică intensă ce alcătuiesc partea activă a celor mai importanți fermenți ai metabolismului se găsesc în hematii în cantitate destul de mare. În felul acesta vitaminele apar în sînge, fiind nu numai transportate de acesta țesuturilor, ci avînd la nivelul sîngelui un rol bine determinat.

J. N i ț u l e s c u, G h. T u d o r a n u și colaboratori [6] au arătat că acidul nicotinic provoacă o ușoară hemoliză, care poate fi preve-

nită prin asocierea acidului ascorbic, sau a vitaminei B_1, influențînd concomitent și bilirubinogeneza. G. Vladimirov și colaboratori [9], [10], [11], într-o serie de lucrări referitoare la metabolismul hemoglobinei, au arătat rolul important al donatorilor de hidrogen și în special al acidului ascorbic pentru menținerea hemoglobinei și pentru transformarea methemoglobinei în hemoglobină, pe cînd flavin-xantinoxidaza trece hemoglobina în methemoglobină. Ivanov (citat după [9]) a arătat capacitatea reducătoare a codehidrazei în soluții de methemoglobină pură, procesul de reducere fiind accelerat de vitamina C, adrenalină, glutation.

De existența și participarea factorului vitaminic depinde menținerea fierului hemoglobinic sub forma sa redusă. Acest rol este realizat la nivelul hematiei, prin procesul de respirație și glicoliză și asigură necontenita reducere a DPN-ului sau TPN-ului, care la rîndul lor reduc mereu fierul hemoglobinic. Acest mecanism este bine redat în schema lui K. Lang [3]. În sprijinul acestei scheme vine o experiență a lui O. Warburg [12], care, încă în 1930, a arătat că albastrul de metilen, în prezența glucozei, nu oxidează hemoglobina în hemiglobină (methemoglobină). Această comportare este tocmai în legătură cu piridinnucleotidul, care trece din DPN și TPN în DPNH și TPNH și care astfel reduce albastrul de metilen în derivatul său leuco.

În procesul vital, refacerea continuă a hemoglobinei reduse necesită integritatea acestor procese, ce sînt asigurate, așa cum s-a arătat mai înainte, de factorul vitaminic, fosfatic și glucoză.

Într-o primă notă [1] am arătat modificările compușilor fosforați ai hematiilor, cînd eritrocitele sînt conservate la +5°C sau incubate la +38°C.

În lucrarea de față sînt prezentate modificările glucozei și fosfaților, cînd hematiile sînt conservate la +5°C sau incubate la 38°C, în prezența vitaminelor B_2, B_6 și PP, de care depinde integritatea fenomenelor amintite.

MODUL DE LUCRU

Cercetările noastre s-au făcut pe sînge recoltat steril la centrul de recoltare și conservare a sîngelui.

Pentru obținerea hematiilor am folosit mai multe procedee, și anume :

— sînge defibrinat cu perle și apoi centrifugat ;

— sînge recoltat cu citrat de sodiu în concentrație de 1 g la 100 ml sînge și apoi centrifugat ;

— sînge recoltat cu acid nicotinic în concentrație de 1,25 g% ml sînge și apoi centrifugat, după indicațiile lui Gh. Tudoranu și colaboratori [8].

În vasul de recoltat sînge se introduce anterior o cantitate determinată din vitaminele B_2, B_6 și PP, astfel încît concentrația finală a acestora să fie în proporție de 0,1 g vitamină pentru 100 ml sînge total. Ca vitamine am folosit riboflavina cristalizată, clorhidratul de piridoxină cristalizat și acidul nicotinic cristalizat. Dozările s-au făcut imediat după recoltarea sîngelui și separarea hematiilor, apoi s-au repetat pentru sîngele

conservat la +5°C, la 3 zile și 9 zile de conservare, iar pentru sîngele incubat la +38°C, la 2, 6, 12 și 22 ore de incubație.

Glucoza a fost dozată prin metoda Hagedorn-Jensen, iar formele de fosfor : mineral, ușor hidrolizabil la 7 min și cel din fosfopiruvat au fost dozate prin metodele descrise în lucrarea anterioară [1].

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Mai întîi s-au cercetat modificările fosforului mineral și ale glucozei în hematiile incubate la 38°C în prezența vitaminelor B_2, B_6 și PP. Hematiile proveneau din sîngele citratat. Fosfații minerali și glucoza s-au dozat atît în hematii cît și în plasmă, incubate separat, precum și în hematiile și plasma, incubate împreună. Rezultatele obținute sînt indicate în tabelele 1 și 2.

Din analiza datelor prezentate în tabela 1 rezultă că, pe cînd la nivelul hematiilor fosforul mineral crește foarte mult, în plasmă se constată numai o ușoară creștere, datorită cantității mai mici de fosfor din plasmă față de globule și lipsei sistemelor fermentative din plasmă. Valorile obținute în plasma ce provine din sîngele citratat și cu vitamine nu se deosebesc mult de cele ale plasmei citratate fără vitamine

Tabela 1

Modificările fosforului mineral în hematiile și plasma incubate la 38° C, în prezența vitaminelor B_2, B_6 și PP. P mineral în mg la 1 000 ml hematii sau plasmă

Varianta	Durata incubației ore				
	0	2	6	12	22
a) Hematii incubate separat de plasmă					
Hematii	32	62	112	240	240
Hematii + vit. B_2	32	53	140	240	262
„ + „ B_6	32	75	145	250	257
„ + „ PP	32	75	145	245	257
b) Hematii incubate cu plasmă					
Hematii	32	58	133	195	240
Hematii + vit. B_2	32	53	107	180	212
„ + „ B_6	32	71	170	237	245
„ + „ PP	32	75	127	215	237
c) Plasmă incubată separat de hematii					
Plasmă	28	30	30	31	36
Plasmă + vit. B_2	28	30	30	33	51
„ + „ B_6	28	28	33	35	40
„ + „ PP	28	30	33	31	48
d) Plasmă incubată cu hematii					
Plasmă	28	30	31	36	50
Plasmă + vit. B_2	28	30	33	36	40
„ + „ B_6	28	31	33	40	40
„ + „ PP	28	30	33	36	41

La nivelul hematiilor eliberarea fosforului mineral este mult mai puternică, ajungînd de la 32 la 240 mg pentru hematiile incubate singure, şi la 262 mg şi 257 mg pentru hematiile incubate în prezenţă de vitamine timp de 22 ore. Eliberarea în timp a fosforului anorganic se face diferit în hematiile simple faţă de cele cu vitamine, iar între hematiile cu vitamine eliberarea este mai încetinită cu vitamina B_2 şi mai rapidă cu vitaminele B_6 şi PP.

După 2 ore de incubare la 38°C constatăm la hematiile cu vitamina B_2, atît la cele incubate separat de plasmă, cît şi la cele incubate cu plasmă, că eliberarea fosforului mineral este mai lentă decît la martor şi că această diferenţă se menţine şi la 6 ore, spre a dispare la 12 şi 22 ore la hematiile incubate separat de plasmă şi a se menţine la cele incubate împreună cu plasma. Aceasta se poate explica prin modificările de permeabilitate sau încetinirea proceselor fermentative.

Încă de mult Ivanov, Embden, Harden-Yong etc. (citaţi din diferite tratate) au arătat că glicoliza are loc în doi timpi: în primul timp se produce esterificarea fosfaţilor, ce atrage scăderea fosfaţilor minerali, avînd loc apoi eliberarea lor, care este maximă cînd glucoza a dispărut. Acest fapt ne-a determinat să urmărim şi variaţiile glucozei în hematiile şi plasma incubată în prezenţa vitaminelor. Rezultatele sînt indicate în tabela 2.

Tabela 2

Modificările glucozei în hematiile şi plasma incubate la 38 °C, în prezenţa vitaminelor B_2, B_6 şi PP. Glucoza în g la 1 000 ml hematii sau plasmă

Varianta	Durata incubaţiei ore				
	0	2	6	12	22
a) Hematii incubate separat de plasmă					
Hematii	0,97	0,71	0,48	0,33	0,24
Hematii + vit. B_2	0,81	0,81	0,62	0,51	0,42
,, + ,, B_6	—	1,14	0,62	0,53	0,38
,, + ,, PP	—	0,81	0,53	0,35	0,33
b) Hematii incubate cu plasmă					
Hematii	0,97	0,96	0,36	0,36	0,37
Hematii + vit. B_2	—	1,12	0,63	0,48	0,67
,, + ,, B_6	—	1,38	0,70	0,56	0,36
,, + ,, PP	—	1,02	0,50	0,47	0,47
c) Plasmă incubată separat de hematii					
Plasmă	1,00	1,00	0,83	0,53	0,20
Plasmă + vit. B_2	—	1,00	0,95	0,58	0,40
,, + ,, B_6	—	0,88	1,10	0,93	0,49
,, + ,, PP	—	0,88	0,83	0,31	0,15
d) Plasmă incubată cu hematii					
Plasmă	1,00	1,00	0,92	0,56	0,19
Plasmă + vit. B_2	—	0,98	0,83	0,58	0,15
,, + ,, B_6	—	1,30	1,15	0,62	0,57
,, + ,, PP	—	1,00	0,90	1,00	0,15

Glicoliza în sîngele citratat se produce și în aceste cazuri în mod identic cu ceea ce literatura indică pentru sîngele total. Cu această ocazie facem numai observația că la nivelul hematiilor glicoliza este mult mai rapidă decît la nivelul plasmei. Prezența vitaminelor indică unele modificări. Singură vitamina PP pare să nu modifice viteza glicolizei, fapt arătat în 1951 de către Gh. Tudoranu și colaboratori.

Valorile obținute la nivelul hematiilor incubate cu acid nicotinic sînt aproape identice cu cele obținute la hematiile singure. Vitaminele B_2 și B_6 par să modifice glicoliza.

Ne-a frapat constatarea că după 2 ore de incubare la 38°C puterea reducătoare nu scade în prezența vitaminelor B_2 și B_6 sau scade foarte puțin, ba uneori chiar crește. Aceasta ne-a determinat să facem un martor reducător, format atît din vitaminele B_2 și B_6 singure cît și din sîngele citratat, recoltat în prezența vitaminelor B_2, B_6 și PP.

Din tabela 3 se vede că în afară de acidul nicotinic, care nu are nici o putere reducătoare, vitaminele B_2 și B_6, în concentrații de 0,1 g%, au o putere reducătoare ce echivalează cu 0,20 g glucoză. Se constată

Tabela 3

Puterea reducătoare a vitaminelor B_2, B_6 și PP singure și a hematiilor și plasmei, singure și în prezența acestor vitamine, după incubarea de 2 ore. Puterea reducătoare este exprimată în g glucoză la 1 000 ml hematii sau plasmă

Varianta	Puterea reducătoare			
	fără vitamine	cu vitamine		
		B_2	B_6	PP
Vitamine singure		0,22	0,20	0,03
Plasmă incubată fără hematii + vitamine	1,34	1,36	1,34	1,36
Plasmă incubată cu hematii + vitamine	1,36	1,36	1,36	1,36
Hematii incubate fără plasmă + vitamine	1,06	1,24	1,24	1,06
Hematii incubate cu plasmă + vitamine	1,13	1,24	1,24	1,13

că această putere reducătoare nu se sumează cu puterea reducătoare a glucozei din plasmă, unde se obțin aceleași valori cu plasma singură sau cu plasma în prezență de vitamină PP.

La hematii, din contra, această reducere se sumează, ceea ce pledează pentru pătrunderea vitaminelor în hematii. Era cunoscută pătrunderea acidului nicotinic, ca și a vitaminei B_2, dar nu și a vitaminei B_6. Prin determinarea puterii reducătoare a hematiilor s-ar putea determina pătrunderea vitaminelor în țesuturi. Noi am constatat că această pătrundere este aproape instantanee, și dacă ea are loc prin fenomene de fosforilare sau prin simplă osmoză, dacă, o dată pătrunse, vitaminele sînt fosforilate sau nu, cercetările ulterioare ne-o vor arăta.

Avînd în vedere datele prezentate în tabela 3 și comparînd valorile glicolizei din tabela 2, constatăm că vitaminele cercetate intensifică glicoliza la nivelul hematiilor.

În lucrarea precedentă [1] s-a arătat că atît în timpul incubării la 38°C timp de 24 ore cît și al conservării hematiilor la +5°C timp de

15 zile se produce o creştere a fosforului mineral şi o dispariţie completă a fosforului uşor hidrolizabil de 7 min, care reprezintă fosforul ATP şi ADP, cînd sîngele este recoltat cu citrat de sodiu ca anticoagulant. Mai departe ne-am pus problema cercetării metabolismului fosforat, cînd sîngele este recoltat cu oxalat sau fluorură ca anticoagulanţi. În tabela 4 sînt prezentate rezultatele obţinute :

Tabela 4

Modificările formelor de fosfor în hematiile din sîngele oxalatat (mg fosfor la 1 000 ml hematii)

Compuşi fosforaţi	Conţinut iniţial	După 24 ore la 38°C	După 15 zile la +5°C
P total	625	643	625
P acidosolubil	379	352	381
P anorganic	16	125	85
P uşor hidrolizabil	50	0	0
P acid fosfopiruvic	55	0	31
P proteic şi lipidic	257	266	224
P lecitină	87	87	87

În hematiile obţinute din sîngele recoltat cu oxalat de potasiu 1 g% ca anticoagulant se constată dispariţia acidului fosfopiruvic şi a fosforului din compuşii hidrolizabili de 7 min, atunci cînd hematiile sînt puse la incubat la 38°C timp de 24 de ore. În hematiile păstrate la +5°C se constată scăderea fosforului din acidul fosfopiruvic şi dispariţia completă a fosforului din compuşii hidrolizabili de 7 min.

În hematiile obţinute din sîngele recoltat cu fluorură de sodiu 1 g% se constată că fosforul uşor hidrolizabil se menţine şi după 15 zile, cînd hematiile sînt conservate la +5°C, aşa cum se poate vedea în tabela 5.

Tabela 5

Modificările formelor de fosfor din hematiile din sîngele fluorurat (mg fosfor la 1 000 ml hematii)

Compuşi fosforaţi	Conţinut iniţial	După 24 ore la 38°C	După 15 zile la +5°C
P total	643	636	632
P acidosolubil	406	406	406
P anorganic	40	120	62
P uşor hidrolizabil	70	0	32
P acid fosfopiruvic	11	0	11
P proteic şi lipidic	286	289	289
P lecitină	80	80	80

Din analiza rezultatelor obţinute se constată o diferenţă netă în comportarea metabolismului fosforat la hematiile din sîngele citratat, oxalatat şi fluorurat. Această diferenţă de comportare trebuie pusă în paralel cu diferenţa de comportare în dispariţia glucozei din hematii şi plasmă provenite din sîngele citratat, oxalatat şi fluorurat. Pentru a

urmări aceste modificări la sîngele în care s-au dozat fosfații, s-a determinat în paralel glucoza în hematii și plasmă, cînd sîngele a fost păstrat la 38°C sau la +5°C, și anume plasma separat de globule sau împreună cu ele, separarea făcîndu-se, în acest din urmă caz, prin centrifugare abia în momentul analizei.

După cum se vede din tabelele 6 și 7, în sîngele citratat atît la ghețar cît și la etuvă, concomitent cu creșterea fosforului mineral, mai ales din

Tabela 6

Fosforul și glucoza în hematiile și plasma sîngelui citratat, oxalatat sau fluorurat, după păstrare de 24 ore la 38°C(I) sau de 15 zile la + 5 °C(II)

Constante dozate	Produsul analizat	Sînge citratat		Sînge oxalatat		Sînge fluorurat	
		I	II	I	II	I	II
P anorganic mg la 1 000 ml	plasmă	22	59	22	30	22	27
	globule	92	146	98	50	97	27
Glucoza g la 1 000 ml	plasmă	0,25	—	0,95	0,85	1,1	0,94
	globule	0,55	0,2	0,55	0,88	0,87	0,92

Tabela 7

Fosforul și glucoza în hematiile și plasma sîngelui citratat, oxalatat sau fluorurat, incubate amestecat (I) sau separat (II), 24 ore la 38°C

Constante dozate	Produsul analizat	Sînge citratat		Sînge oxalatat		Sînge fluorurat	
		I	II	I	II	I	II
P anorganic mg la 1 000 ml	plasmă	59	22	32	22	56	22
	globule	146	98	100	104	49	49
Glucoza g la 1 000 ml	plasmă	0,33	0,26	0,39	1,07	1,02	1,05
	globule	—	0,55	0,24	0,55	0,94	0,89

hematii, se constată o scădere a glucozei atît în plasmă cît și în globule. De remarcat că la 38°C timp de 24 ore glucoza scade foarte mult în plasmă, chiar mai mult decît în globule.

În sîngele oxalatat, fosforul mineral eliberat la +5°C, după 15 zile, este minim, iar glucoza se menține aproape la același nivel. La 38°C timp de 24 ore, fosforul crește, dar mai puțin ca la sîngele citratat; în schimb, glucoza din globule scade la jumătate, concomitent cu creșterea fosforului mineral.

În sîngele fluorurat, conservat la ghețar, după 15 zile nu se constată nici o eliberare de fosfor mineral și, paralel, glicemia se menține la valoarea inițială, atît în plasmă cît și în globule.

În determinările făcute concomitent în plasmă și în globule, ținute separat și împreună, se observă unele diferențe, care sînt datorite difuziunilor posibile, cînd globulele nu sînt separate de plasmă.

Dat fiind că vitaminele influențează glicoliza la nivelul hematiilor (vezi tabela 2), ne-am pus problema — cum vor fi influențate valorile fosforului mineral, fosforului hidrolizabil de 7 min și fosforului din acidul fosfopiruvic la nivelul hematiilor, cînd acestea se conservă la +5°C timp de 9 zile în prezența vitaminelor B_2, B_6 și PP (tabela 8).

Cercetările au fost făcute pe 3 loturi de sînge în legătură cu anticoagulantul întrebuințat pentru recoltarea sîngelui în vederea obținerii hematiilor: hematii provenite din sîngele recoltat pe perle și defibrinat sau din sîngele făcut incoagulabil cu acid nicotinic în concentrație fie de 1,25 g la 100 ml sînge, fie de 0,62 g la 100 ml sînge. Rezultatele obținute sînt indicate în tabela 8.

Tabela 8

Modificările fosforului mineral, fosforului hidrolizabil de 7 min și a fosforului acidului fosfopiruvic din hematiile provenite din sîngele defibrinat cu perle, acid nicotinic sau citrat și influența vitaminelor B_2, B_6 și PP înainte de conservare (I), la 3 zile (II) și la 9 zile (III) de conservare la +5 °C (mg P la 1 000 ml hematii)

Varianta	P mineral			P hidrolizabil 7 min			P acid fosfopiruvic		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III
a) Hematii provenite din sînge defibrinat și necoagulat cu acid nicotinic									
Defibrinat	17	18	30	15	5	0	0	0	0
Vit. PP 1,25%	17	30	43	14	9	4	0	0	0
Vit. PP 0,62%	17	36	60	13	12	12	0	0	0
b) Influența vitaminelor asupra compușilor fosforați din hematiile provenite din sîngele defibrinat									
Hematii + Vit. B_2	31	28	—	50	42	—	0	0	0
,, + Vit. B_6	20	44	83	62	32	31	8	0	0
,, + Vit. PP	17	52	108	55	55	42	20	0	0
c) Influența vitaminelor asupra compușilor fosforați din hematiile provenite din sîngele citratat									
Hematii + vit. B_2	33	33	95	60	49	20	8,9	12	8
,, + vit. B_6	33	33	140	62	50	20	4	12	4
,, + vit. PP	33	33	77	66	58	32	4	12	8

Rezultatele obținute în hematiile ce provin din sîngele defibrinat confirmă rezultatele anterioare, care au arătat creșterea fosforului mineral și dispariția fosforului hidrolizabil de 7 min și a fosfopiruvatului în timpul conservării hematiilor la +5°C. Datele obținute servesc ca martori pentru aprecierea influenței vitaminei PP în concentrații de 1,25 și 0,62 g%. Semnalăm că și în concentrație de 0,62 g% acidul nicotinic are acțiune anticoagulantă. Sub acțiunea vitaminei PP se constată o menținere a valorii fosforului hidrolizabil de 7 min, cu toată creșterea fosforului mineral. Același rol îl joacă vitamina PP în prezența sîngelui citratat, ca și în cazul sîngelui defibrinat prin perle. Vitaminele B_2 și B_6 au o acțiune asemănătoare, dar acidul nicotinic are cea mai mare influență.

După cum rezultă din datele prezentate, vitaminele B_2, B_6 și PP intervin direct în procesele metabolice ale hematiei.

Considerăm că menținerea la un nivel crescut a ATP-ului de către aceste vitamine, în special de către acidul nicotinic, se datorește nu neutralizării sale, ci dimpotrivă refacerii sale continue în procesul glicolizei anaerobe sau eventual chiar al glicolizei oxidative.

Cercetările din ultima vreme, mai ales ale lui G. Vladimirov și colaboratori [9], [10], [11], ale lui N. B. Cerniak [2] și I. Luganova [4] au arătat că glicoliza anaerobă este caracteristică hematiilor anucleate și că glicoliza oxidativă predomină la nivelul leucocitelor. Deși glicoliza oxidativă este foarte mică la nivelul hematiilor, putem totuși considera că este extrem de importantă și o putem asemăna cu ceea ce se întîmplă la nivelul cristalinului, care, deși — ca și hematiile —nu are nucleu, prezintă totuși un metabolism propriu foarte intens. Cu toate că la nivelul cristalinului glicoliza oxidativă este extrem de scăzută în comparație cu cea anaerobă, ea joacă un rol nu mai puțin important decît aceasta în formarea ATP-ului macroergic. La nivelul hematiei presupunem că se petrec aceleași fenomene, dar numai determinarea reînnoirii ATP-ului cu acid fosforic marcat și urmărirea fosforilării oxidative cu elemente marcate ne va lămuri mai precis această ipoteză.

Noi am determinat și consumul de oxigen de către hematii la aparatul Warburg și am constatat că adăugarea de vitamine și în special a vitaminelor B_1, B_2, C și PP mărește enorm consumul de oxigen de către hematii. Cercetările se cer a fi continuate și ele vor forma obiectul unei alte lucrări.

Rezultatele obținute și prezentate în nota de față justifică ipoteza că pentru cercetarea metabolismului se pot obține rezultate importante nu numai utilizînd inhibitori ai metabolismului — ca, de exemplu, acidul monoiodacetic, malonat, fluorură — ci și p in utilizarea acceleratorilor metabolici, care intervin în mod fiziologic în timpul metabolismului, indicîndu-i sensul și intensitatea.

În fine, considerăm că utilizarea vitaminelor este necesară pentru conservarea sîngelui. Se știe că pentru păstrarea integrității hematiilor și a viabilității lor, de o importanță deosebită este menținerea proceselor metabolice la un nivel optim. Din această cauză, diverși cercetători utilizează glucoza în cantitate suficientă pentru conservarea sîngelui. Adaosul de glucoză nu împiedică însă glicoliza, ci, din contră, o mărește, dar prin aceasta se reface ATP-ul. În timpul conservării sîngelui, atît timp cît fenomenele metabolice se petrec normal la nivelul hematiei, hemoliza nu apare. Menținerea lui se încearcă astăzi prin adăugarea de ATP.

De aceea, considerăm că rezultatele noastre, în care se arată că vitaminele B_2, B_6 și în special acidul nicotinic mențin la un nivel ridicat valoarea ATP-ului, chiar după 9 zile de conservare la +5°C, cînd în mod obișnuit acesta dispare complet, nu pot fi lipsite de interes.

CONCLUZII

1. Urmărindu-se modificările fosforului mineral și ale glucozei în hematiile incubate la + 38°C timp de 24 ore, în prezența vitaminelor B_2, B_6 și PP s-a constatat că la nivelul hematiilor fosforul mineral crește

foarte mult. Această creştere este mai puternică la nivelul hematiilor incubate cu vitaminele amintite.

2. După 2 ore de incubare a hematiilor cu vitamina B_2, se constată o creştere a fosforului mineral, care este însă mai mică decît a martorului, pentru ca după 22 ore creşterea fosforului mineral să depăşească pe cea a martorilor.

3. Prezenţa vitaminelor B_6 şi PP determină o creştere a fosforului mineral în timpul incubării, mai mare decît cea a martorului.

4. Glicoliza la nivelul hematiilor, în timpul incubării acestora, singure sau în prezenţa vitaminelor, este intensă.

5. Acidul nicotinic nu influenţează viteza glicolizei, pe cînd vitaminele B_2 şi B_6 o încetinesc uşor.

6. Vitaminele B_2 şi B_6 au proprietăţi reducătoare, reducînd fericianura în ferocianură.

7. Vitaminele B_2 şi B_6 pătrund imediat în hematii atunci cînd sînt adăugate la sînge. Determinarea puterii reducătoare a hematiilor, după adăugarea vitaminelor amintite, poate constitui un mijloc de apreciere a pătrunderii vitaminelor B_2 şi B_6 în ţesuturi.

8. Din cercetările întreprinse rezultă că piridoxina, lactoflavina şi acidul nicotinic intervin direct în metabolismul hematiilor, cînd acestea sînt conservate la + 5°C sau incubate la + 38°C.

9. Adăugarea acestor vitamine la sînge determină trecerea lor în hematii, unde influenţează glicoliza şi păstrarea valorii ATP-ului la un nivel superior celui din hematiile provenite din sîngele la care nu s-au adăugat vitamine.

10. Valoarea ATP-ului este menţinută la un nivel înalt, deşi vitaminele utilizate măresc glicoliza la nivelul hematiei.

11. Eliberarea de fosfor mineral se face în aceeaşi proporţie în hematiile fără vitamine şi în cele cu vitamine adăugate, indiferent dacă acestea sînt separate de plasmă sau nu în timpul incubării de 24 de ore. Fosforul eliberat din hematii, deşi ajunge să fie aproximativ de 6 ori mai mare decît în plasmă, nu difuzează în plasmă.

12. Rezultatele arătate în concluziile 8—11 se obţin, indiferent dacă sîngele este făcut incoagulabil prin defibrinare cu perle, prin citratare sau prin tratare cu acid nicotinic.

Prezentată la redacţie la 21 iulie 1960

Institutul de medicină Iaşi,
Laboratorul de biochimie

ВЛИЯНИЕ ВИТАМИНОВ НА ДИНАМИКУ ФОСФОРНЫХ КОМПОНЕНТОВ ГЕМАТИЙ

РЕЗЮМЕ

При добавлении в кровь витамины B_2, B_6 и PP немедленно проникают в гематии и влияют на их обмен, вызывая изменения гликолиза, фосфатов и дыхания гематий. По сравнению с контроль-

ными опытами, в присутствии витаминов B_2, B_6 и PP, содержание глюкозы уменьшается, содержание минерального фосфора увеличивается, а дыхание гематий значительно интенсифицируется по сравнению с дыханием гематий, к которым не добавляли витаминов.

Авторы проследили за изменением АТФ (аденозинтрифосфорной кислоты) во время консервирования гематий при + 5°С или их инкубации при + 38°С и установили исчезновение АТФ в крови, в которую добавляли соли лимонной или щавелевой кислот, и некоторое снижение концентрации АТФ в крови, в которую добавляли фтористый натрий.

Особенно важным является то, что при прибавлении витаминов B_2 и B_6 и, в особенности, никотиновой кислоты в гематии или во взятую кровь содержание АТФ остается повышенным во время консервирования крови.

INFLUENCE DES VITAMINES SUR LA DYNAMIQUE DES COMPOSÉS PHOSPHORÉS DES HÉMATIES

RÉSUMÉ

Introduites dans le sang, les vitamines B_2, B_6 et PP pénètrent dans les hématies immédiatement et exercent une influence sur le métabolisme des hématies ; le fait est traduit par les modifications de la glycolyse et des phosphates ainsi que par les modifications de la respiration des hématies. En présence des vitamines B_2, B_6 et PP, le taux du glucose baisse et celui du phosphore minéral augmente, par rapport aux témoins ; la respiration des hématies s'intensifie d'une façon notable, comparativement à la respiration des hématies auxquelles on n'a pas ajouté de vitamines.

L'examen des variations de l'ATP, pendant la conservation des hématies à + 5°C ou pendant leur incubation à + 38°C, a montré la disparition totale de l'acide adénosintriphosphorique, au cas ou le sang est citraté ou oxalaté, et sa réduction, dans le sang prélevé au fluorure de sodium.

Une constatation particulièrement interessante est celle que le traitement des hématies ou du sang frais aux vitamines B_2 et B_6, et surtout à l'acide nicotinique, détermine le maintien de l'ATP à un niveau élevé, pendant toute la période de conservation du sang.

BIBLIOGRAFIE

1. BATCU A., BUSUIOC A., Revista medico-chirurgicală, Iaşi, **64**, *3* (1960).
2. ЧЕРНЯК Н. Б., Вопросы медицинской химии, **III**, 218 (1957).
3. LANG K., *Biochimie der Ernährung*, Darmstadt, 1957, I.

4. Луганова И., Сеиц И., Теодорович В., Вопросы медицинской химии, **III**, 428 (1957).
5. Meyerhof O., Biochem. Zeitschr., **246**, 249 (1932).
6. Nitulescu J., Tudoranu G., Balmus P., Sibi M., Lucrările Sesiunii generale ştiinţifice din 2—12 iunie 1950, Acad. R.P.R.
7. Roche I., Bull. Soc. Chim. biol., **XIII**, 841 (1931).
8. Tudoranu G., Toporaş P., Creteanu G., Analele Universităţii „A. I. Cuza" Iaşi, **XXXI**, 65 (1949).
9. Владимиров Г., Вопросы медицинской химии, **III**, 332 (1957).
10. Владимиров Г., Асмарин И., Урисон А., Биохимия, **XVIII**, *5*, (1953).
11. Владимиров Г., Урисон А., Украински биохимичный журнал, **XXIX**, 272 (1955).
12. Warburg O., în Flaschenträger B., Lehnartz E., *Physiologische Chemie*, Ed. Springer, Berlin, 1954, **II**, Teil 1, Bandteil a.

ACCELERAREA OXIDĂRII GLICOCOLULUI PRIN SISTEMUL POLIFENOLOXIDAZIC DIN FLOAREA-SOARELUI ÎN PREZENȚA PROLINEI

DE

ODETTE ZAHARIA

Pe cînd numeroase cercetări au arătat prezența unor aminoacidoxidaze în țesuturile animale [1], [2], [3], [4] și microorganisme [5], [6], [7], în plantele superioare activitatea aminoacidoxidazică nu a fost pusă în evidență [8], [9]. În schimb, W. O. James, E. A. H. Roberts, H. Beevers, P. C. de Kock [10] au descoperit că în plante oxidarea aminoacizilor se face prin intermediul sistemului polifenoloxidazic. Lucrînd pe *Atropa belladona*, cunoscută pentru sistemul polifenoloxidazic foarte activ, autorii menționați au arătat că atît aminoacizii primari cît și cei secundari formează cu difenolii oxidați complecși colorați, dar numai aminoacizii primari se desaminează oxidativ.

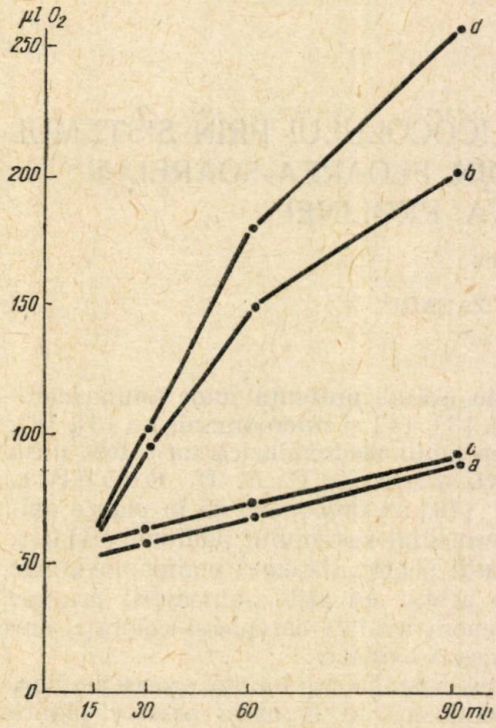
Pentru a stabili dacă și la floarea-soarelui are loc un proces similar, am controlat activitatea polifenoloxidazică în frunzele acestor plante prin metoda D. M. Mihlin și Z. S. Bronoviţka, indicată de A. I. Ermakov [11], apoi lucrînd în condițiile indicate de W. O. James și colaboratori [10] am urmărit oxidarea glicocolului prin consumul de oxigen la aparatul Warburg.

Extractul enzimatic a fost obținut prin mojararea frunzelor de floarea-soarelui cu o cantitate triplă de apă distilată. După o oră, extractul se centrifughează sau se trece prin tifon. Sistemul complet a constat din 0,1 ml extract, 0,7 ml tampon de fosfați (pH = 7,8), 0,2 ml pirocatehină 0,05 M, 0,5 ml glicocol 0,1 M și apă distilată pînă la 2 ml. În sistemul martor, soluția de glicocol a fost înlocuită cu un volum egal de apă distilată.

Din figură (curbele *a* și *b*) se observă creșterea consumului de oxigen în sistemul în care se află glicocol. În aceste probe soluția a devenit brun-roșiatică, ca urmare a formării complexului dintre pirocatehina oxidată și glicocol, așa cum menționează și W. O. James și

colaboratori [10]. Dacă în locul glicocolului se introduce prolină 0,1 M (0,2 ml) apare coloraţia roşie-purpurie a complexului, fără însă să se constate şi creşterea consumului de oxigen (curba *c*). Rezultă că oxidarea aminoacizilor prin sistemul polifenoloxidazic, descoperită de W. O. J a m e s pe *Atropa belladona*, se aplică şi la floarea-soarelui.

Efectuînd cercetări pe frunze de floarea-soarelui, am constatat că în cazul amestecului de glicocol şi prolină consumul de oxigen este mai mare decît în cazul cînd sistemul conţine numai glicocol în aceeaşi cantitate (curba *d*). Dozările paralele de amoniac, prin metoda Parnas-Wagner, au dat rezultate similare, şi anume: în probele ce nu conţin nici un aminoacid, respectiv în cele ce conţin numai prolină, amoniacul este absent, iar în probele cu glicocol amoniacul apare în cantităţi dozabile şi creşte semnificativ dacă la probele cu glicocol se adaugă prolină (tabela, partea A). Aceste fapte arată fie că în prezenţa glicocolului devine posibilă oxidarea prolinei, fie că prolina accelerează oxidarea glicocolului.



Consumul de oxigen datorit oxidării glicocolului prin activitatea polifenoloxidazică a unui extract de frunze de floarea-soarelui.

a — sistemul martor)fără aminoacid); *b* — sistemul cu glicocol; *c* — sistemul cu prolină; *d* — sistemul cu glicocol+prolină.

În primul caz era de aşteptat ca prin oxidarea prolinei să apară ca produs intermediar acidul glutamic. De aceea, am efectuat dozarea acidului glutamic atît în sistemul care cuprindea 1 ml extract frunze de floarea-soarelui obţinut în condiţiile menţionate, 2 ml tampon de fosfaţi (pH=7,8), 1 ml pirocatehină 0,05 M, 10 ml glicocol 0,1 M şi 10 ml prolină 0,1 M, cît şi într-un sistem similar care nu cuprindea prolină, soluţia acesteia fiind înlocuită cu volumul corespunzător de apă distilată. Sistemele se menţineau la 30°C timp de 90 min, iar apoi se inactivau cu 1 ml acid fosforic 10%. Dozarea acidului glutamic s-a făcut prin adsorbţie pe coloană de oxid de aluminiu, după metoda indicată de B. L. K r e t o v i c i şi A. A. B u n d e l [12]. Proba mineralizată se aducea la 50 ml şi în 10 ml se doza amoniacul în condiţiile descrise într-o lucrare anterioară [13]. Aşa cum rezultă din tabelă (partea B), diferenţa constatată nu este semnificativă. Înseamnă deci că, în condiţiile menţionate, formarea acidului glutamic nu are loc.

Tabelă

Valorile medii ale cantității de amoniac (mg NH_3 – partea A ; mg N – partea D), de acid glutamic (mg N) și glicocol (mg N) în sistemele ce conțin glicococol, respectiv glicocol + prolină, în prezența extractelor frunzelor de floarea-soarelui

Componenta	Sistemul	Nr. determinărilor	Valori extreme	Media aritmetică	Diferența	Diferența limită semnificativă
A Amoniac	glicocol	14	0,110–0,167	0,132	–	0,058
	glicocol + prolină	17	0,195–0,290	0,241	0,109***	(P = 0,001)
B Acid glutamic	glicocol	6	0,26–0,60	0,48	–	0,41
	glicocol + prolină	6	0,36–0,96	0,65	0,17	(P = 0,05)
C Glicocol	glicocol	9	0,305–0,336	0,316	–	0,027
	glicocol + prolină	9	0,235–0,287	0,276	0,040*	(P = 0,05)
D Amoniac	glicocol	10	0,039–0,047	0,043	–	0,01
	glicocol + prolină	9	0,070–0,089	0,077	0,034***	(P = 0,001)

Dacă în adevăr se transformă numai glicocolul, ar trebui ca în același sistem scăderii cantității de glicocol să-i corespundă o creștere echivalentă a cantității de amoniac. Pentru verificare, am lucrat atît pe sistemul complet care cuprindea 0,2 ml extract de frunze de floarea-soarelui, 0,5 ml tampon de fosfați (pH 7,8), 0,2 ml pirocatehină 0,05 M, 0,5 ml glicocol 0,1 M, 0,2 ml prolină 0,1 M și apă 0,5 ml, cît și pe un sistem ce nu cuprindea prolină, în locul soluției de prolină fiind introdus un volum egal de apă distilată. Sistemele se țineau 3 ore la 30°C și apoi se inactivau cu 0,5 ml acid fosforic 10% ; în 1 ml soluție se doza amoniacul prin metoda Parnas-Wagner, iar în alt ml soluție se doza glicocolul după metoda D. Tuverkalov, indicată de A. N. Belozerski și H. I. Proskuriakov [14] (în condițiile metodei Tuverkalov, prolina nu reacționează [15]). Experiențele efectuate (tabela, partea C și D) arată că în sistemul cu glicocol și prolină scăderea cantității de glicocol este mai mare decît în sistemul care conține numai glicocol, iar cantitatea de amoniac formată corespunde glicocolului oxidat. În adevăr, la 0,040 mg azot provenit de la glicocol corespunde 0,034 mg azot amoniacal.

Rezultă că desaminarea oxidativă a aminoacizilor prin sistemul polifenoloxidazic al plantelor, descoperită de W. O. James și colaboratori, se aplică și la oxidarea glicocolului în frunzele de floarea-soarelui, iar prezența prolinei intensifică oxidarea acestui aminoacid.

Cercetări cu privire la comportarea altor aminoacizi în cadrul acestui proces enzimatic oxidativ sînt în curs.

Prezentată la redacție la 19 ianuarie 1961

Institutul de biochimie
al Academiei R.P.R., București

УСКОРЕНИЕ ОКИСЛЕНИЯ ГЛИКОКОЛЯ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ПОЛИФЕНОЛОКСИДАЗНОЙ СИСТЕМЫ ПОДСОЛНЕЧНИКА В ПРИСУТСТВИИ ПРОЛИНА

РЕЗЮМЕ

В работе исследуется действие, оказываемое полифенолоксидазной системой листьев подсолнечника на окисление гликоколя и пролина с целью потребления кислорода (определяемое аппаратом Варбурга), изменения количества аммиака (определяемое методом Парнас-Вагнера), а также глутаминовой кислоты (по методу Б. Л. Кретовича и А. А. Бунделя) и гликоколя (по методу Д. Туверкалова).

Было констатировано, что только гликокол оксидативно дезаминируется и что присутствие пролина усиливает окисление этой аминокислоты.

ОБЪЯСНЕНИЕ РИСУНКОВ

Рис. 1. — Потребление кислорода, вызванное окислением гликоколя в результате полифенолоксидазного действия экстракта листьев подсолнечника. *a*) контрольная система (без аминокислоты) ; *b*) система с гликоколем; *c*) система с пролином ; *d*) система с гликоколем и пролином.

ACCÉLÉRATION DE L'OXYDATION DU GLYCOCOLLE PAR LE SYSTÈME POLYPHÉNOLOXYDASIQUE DE L'HÉLIANTHE, EN PRÉSENCE DE PROLINE

RÉSUMÉ

L'action du système polyphénoloxydasique des feuilles d'hélianthe, sur l'oxydation du glycocolle et de la proline, a été étudiée en examinant la consommation d'oxygène à l'appareil de Warburg, les variations de la quantité d'ammoniaque, par la méthode de Parnas-Wagner, ainsi que celles de l'acide glutamique, par la méthode B. L. Krétovitch et A. A. Boundel, et du glycocolle, à l'aide de la méthode de D. Touverkalov.

On a constaté que seul le glycocolle subit une désamination oxydative et que la présence de la proline intensifie l'oxydation de cet acide aminé.

EXPLICATION DES FIGURES

Fig. 1. — Consommation d'oxygène due à l'oxydation du glycocolle, par suite de l'activité polyphénoloxydasique d'un extrait de feuilles d'hélianthe. *a* — système témoin (sans acide aminé) ; *b* — système à glycocolle ; *c* — système avec addition de proline ; *d* — système à glycocolle + proline.

BIBLIOGRAFIE

1. H. A. KREBS, *The oxidation of d(+) proline by d-aminoacid oxidase.* Enzymologia, *7*, 53 (1939).
2. M. NEBER, *Über den Abbau von Prolin im Tierkörper.* Hoppe Seyler's. Ztschr. für physiol. Chemie, **240**, 70 (1936).
3. J. V. TAGGART, R. B. KRAKAUR, *Studies on the cyclophorase system. The oxidation of proline and hydroxyproline.* J. Biol. Chem., **177**, 641 (1949).
4. P. RICAUD, *Étude de l'oxydation enzymatique de la proline.* Bull. Soc. Chim. biol., **36**, 827 (1954).
5. P. K. STUMPF, D. E. GREEN, *L-amino-acid oxidase of Proteus vulgaris.* J. Biol. Chem., **153**, 387 (1944).
6. N. H. HOROWITZ, *The d-amino-acid oxidase of Neurospora.* J. Biol. Chem., **154**, 141 (1944).
7. S. G. KNIGHT, *The l-amino-acid oxidase of molds.* J. Bacter., **55**, 401 (1948).
8. J. BONNER, *Plant Biochemistry.* Acad. Press inc., New York, 10, 1950, 230.
9. W. RUHLAND, *Handbuch der Pflanzenphysiologie.* J. Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg, (cap. The degradation of amino-acids by H. E. Street), 1958, **8**, 675.
10. W. O. JAMES, E. A. ROBERTS, H. BEEVERS, P. C. DE KOCK, *The secondary oxidation of aminoacids by the catecholoxidase of Belladona.* Bioch. J., **43**, 626 (1948).
11. А. И. ЕРМАКОВ, В. В. АРАСИМОВИЧ, М. И. СМИРНОВА-ИКОННИКОВА, И. К. МУРРИ, *Методы биохимического исследования растений*, Москва, 1952, 65.
12. Б. Л. КРЕТОВИЧ, А. А. БУНДЕЛ, *Хроматографическое определение дикарбоновых аминокислот в растениях.* ДАН СССР, **XLI**, *5*, 861 (1948).
13. E. MACOVSCHI, O. ZAHARIA, *Acțiunea prolinei asupra aminoacizilor și substanțelor proteice din floarea-soarelui.* Studii și cercetări de biochimie, *1*, 7 (1960).
14. А. Н. БЕЛОЗЕРСКИ, Х. И. ПРОСКУРЯКОВ, *Практическое руководство по биохимии растений.* Государственное издательство „Советская Наука", Москва, 1951, 127.
15. W. GROSSMAN, P. STADLER, *Gasometrische Bestimmung der Aminosäuren. Methoden der Fermentforschung.* Georg Thieme-Verlag, Leipzig, 1940, **II**, 1107.

PROTEINELE DE REZERVĂ ŞI PROTEINELE PROTOPLASMATICE DIN SĂMÎNŢA DE FASOLE (*PHASEOLUS VULGARIS*)

DE

VICTOR GHEŢIE şi LUCIA BUZILĂ

În sămînţa monocotiledonatelor şi a dicotiledonatelor albuminate, endospermul este organul în care sînt înmagazinate substanţele de rezervă. Dacă el conţine proteine ca substanţe de rezervă, atunci preparatele proteice din sămînţă vor fi amestecuri de proteine originare din embrion şi endosperm.

Proteinele din aceste două formaţiuni nu sînt însă identice. T. Osborne (citat după [1]) a arătat că în embrionul de grîu se găsesc proteine salinosolubile (globuline), însă practic lipsesc proteinele alcool- şi alcalinosolubile (gliadina şi glutelina) care sînt localizate în endosperm. Aceste date mai vechi au fost confirmate recent de E. V. Kolobkova [2] pe seminţe de porumb. Deosebiri în compoziţia proteică a embrionului şi endospermului sînt semnalate şi în lucrările lui E. Mertz şi colaboratori [3].

Prolaminele şi glutelinele, practic localizate numai în endosperm, constituie marea majoritate a proteinelor din sămînţa cerealelor, fiind considerate ca proteine de rezervă.

Globulinele cerealelor se găsesc prezente în seminţe în cantitate mică, reprezentînd probabil o parte din sistemul protoplasmatic al ţesuturilor embrionului şi endospermului [4]. Globulinele nu sînt însă distribuite uniform între embrion şi endosperm. S-a arătat că în embrionul de grîu şi orz există o fracţiune globulinică care lipseşte sau nu se găseşte decît în cantitate foarte mică în endosperm, şi invers, în endosperm au fost identificate fracţiuni globulinice care lipsesc din embrion [5].

În sămînţa monocotiledonatelor există deci două tipuri distincte de proteine: proteine protoplasmatice localizate atît în embrion cît şi în endosperm, şi proteine de rezervă localizate în endosperm.

Deosebirile care s-au semnalat în caracterul proteic al acestor două părți ale seminței nu sînt surprinzătoare. Embrionul și endospermul sînt formațiuni bine diferențiate din punct de vedere morfologic și funcțional, avînd în plus și o origine ontogenetică diferită. Era de așteptat deci ca în timpul ontogenezei, în procesul de diferențiere morfologică să se producă și o specializare a celulelor endospermului și embrionului, în sensul sintezei unor proteine specifice.

Alta este însă situația la semințele exalbuminate ale dicotiledonatelor, formate doar din tegument și embrion. În aceste semințe embrionul, în cursul dezvoltării sale intraseminale, consumă proteinele endospermului și le depune ca substanțe de rezervă în cele două cotiledoane ale sale. Biosinteza proteinelor de rezervă nu are loc deci într-un organ special (endospermul), ci este localizată într-o parte a embrionului și anume în cotiledoane. Deși nu sînt sintetizate într-un organ special, proteinele de rezervă pot avea caractere specifice, distincte de caracterele proteinelor protoplasmatice [6]. În acest caz, în celulele cotiledoanelor, alături de proteinele protoplasmatice, există și proteine de rezervă specifice, pe cînd în restul embrionului se găsesc doar proteinele protoplasmatice.

Studiul complexelor proteice din diferite părți ale embrionului nu s-a făcut pînă în prezent, deși pe această cale s-ar fi creat premisele pentru înțelegerea mai exactă a modificărilor pe care le suferă proteinele în timpul maturării sau germinării semințelor. Ne-am propus să cercetăm această problemă, în care scop am ales pentru experiențe sămînța exalbuminată de fasole (*Phaseolus vulgaris*). Embrionul a fost împărțit în două părți : 1) cotiledoanele și 2) radicela, tulpina și gemula luate împreună *). Preparatele proteice obținute din cotiledoane și restul embrionului s-au studiat comparativ, atît în ceea ce privește proprietățile lor fizico-chimice, cît și cele biologice.

MATERIAL ȘI METODE

S-au folosit semințe de fasole (*Phaseolus vulgaris L.*) din soiul *Fasolea de Ialomița*. Separarea cotiledoanelor de restul embrionului s-a făcut manual.

Obținerea substanțelor proteice. Făina, obținută prin măcinarea cotiledoanelor și restului embrionului s-a omogenizat prin cernere cu ajutorul sitei mecanice tip Geyer (sita finală cu ochiurile de 0,4 mm). Din acest material s-au extras substanțele proteice cu tamponul Michaelis (veronal sodic — acetat de sodiu) de pH = 8,0 și putere ionică = 0,065, folosind un raport de extracție de 1 p. făină/5 p. tampon. Operația s-a efectuat timp de 30 min în agitatorul mecanic, după care s-a continuat la frigider, timp de 12 ore. Extractul proteic obținut se limpezește prin două centrifugări succesive. Prima centrifugare se efectuează la 4 000 g,

*) În cuprinsul articolului am întrebuințat pentru radicelă, tulpină și gemulă termenul de „restul embrionului".

timp de 10 min, iar cealaltă la 11 800 g, timp de 15 min. Determinarea concentrației proteice s-a făcut într-o parte alicotă a extractului, prin metoda Dzialoszynski [7]. S-au găsit, atît pentru cotiledoane cît și pentru restul embrionului, valori cuprinse între 1,4—1,8 g%.

Precipitarea fracționată cu sulfat de amoniu. S-a efectuat atît pentru stabilirea curbelor de relargaj a proteinelor din cotiledoane și restul embrionului cît și pentru stabilirea solubilității diferitelor fracțiuni electroforetice care compun proteina totală.

Curbele de relargaj s-au stabilit prin metoda indicată de J. Loiseleur [8]. Pentru determinarea concentrației proteice în supernatant, s-a folosit metoda Dzialoszynski. Deoarece metoda nu are precizia metodei distilării micro-Kjeldahl și fiindcă temperatura în timpul determinărilor a variat între 4—9°C, curbele de relargaj nu definesc heterogenitatea și solubilitatea absolută a proteinei analizate. În acest caz sînt evidențiate doar deosebirile care există în heterogenitatea și solubilitatea proteinelor din embrion și cotiledoane. Solubilitatea proteinelor s-a exprimat în % proteină precipitată din proteina totală.

Pentru stabilirea solubilității diferitelor fracțiuni electroforetice care compun cele două proteine, s-au efectuat precipitări la diferite concentrații de sulfat de amoniu, lucrîndu-se astfel: la soluția proteică se adaugă un volum determinat dintr-o soluție saturată de sulfat de amoniu; precipitatul corespunde unei concentrații date de sulfat de amoniu iar în supernatant se mărește apoi concentrația agentului precipitant prin adăugarea unei noi cantități de sulfat de amoniu. Se obțin astfel fracțiuni proteice precipitate la diferite grade de saturare a soluției în sulfat de amoniu. Aceste fracțiuni precipitate s-au analizat electroforetic.

Electroforeza pe hîrtie. S-a efectuat în tampon Michaelis (veronal sodic — acetat de sodiu), de pH = 8,0 și putere ionică = 0,065. Determinările s-au făcut pe hîrtie Whatman nr. 1, folosindu-se o cădere de potențial de 9,6 V/cm timp de 8 ore.

Pentru evidențierea proteinelor s-a folosit colorația cu albastru de bromfenol 0,1 g% timp de 45 min. Determinarea cantitativă a procentului fracțiunilor separate s-a făcut prin metoda eluției [9].

Revelarea glicoproteinelor neutre s-a făcut prin colorare cu reactiv Schiff după tehnica indicată de A. Titaev și E. G. Larski [10], însă pentru oxidarea polizaharidelor s-a folosit o soluție apoasă de acid periodic [11]. Pentru determinarea cantitativă a fracțiunilor glicoproteice s-a folosit metoda eluției [10]. Glicoproteinele acide s-au evidențiat prin colorare directă cu albastru de toluidină [12]. Colorarea lipoproteinelor s-a făcut după metoda lui H. J. Mc Donald, folosind negrul sudan acetilat [13].

Determinarea cantitativă atît a glicoproteinelor acide cît și a lipoproteinelor s-a făcut prin evaluare fotometrică directă cu densitometrul MGF. Mobilitatea electroforetică a fracțiunilor proteice s-a determinat după indicațiile lui H. G. Kunkel [14].

Electroforeza în gel de agar-agar. S-a efectuat în tampon Longsworth (veronal sodic — veronal) de pH = 8,6 și putere ionică = 0,05. Drept

gel s-a folosit o soluție de agar-agar 1% în tampon Longsworth, la care s-a adăugat, pentru conservare, și 10 mg% mertiolat. Determinările s-au făcut la temperatura camerei, folosindu-se o cădere de potențial de 17,5 V/cm timp de 12 ore. Prelucrarea plăcilor de agar pentru evidențierea și determinarea cantitativă a fracțiunilor proteice separate s-a făcut prin metodele curente [15].

Polarografierea fracțiunilor separate prin electroforeză. Caracterizarea polarografică a fracțiunilor proteice separate prin electroforeză s-a făcut cu ajutorul metodei lui J. Homolka [16]. Pentru a realiza o concentrație proteică apropiată în eluatele fracțiunilor separate, s-a procedat astfel: se localizează poziția diferitelor fracțiuni electroforetice prin colorarea unei fîșii înguste din banda de hîrtie. Din restul benzii necolorate, porțiunile care corespund diferitelor fracțiuni electroforetice se eluează într-o soluție de clorură de sodiu 0,145 M, timp de 24 ore. Pentru a obține în fiecare eluat aceeași concentrație proteică fracțiunile se eluează într-un volum de clorură de sodiu proporțional cu procentul lor relativ. Pentru polarografiere, toate eluatele s-au adăugat la un volum egal de soluție test Brdicka [17] conținînd clorură hexaminocobaltică 0,001 N, clorură de amoniu 0,1 N și amoniac 0,1 N. S-a utilizat o sensibilitate a galvanometrului de 1/30 și un timp de picurare de 3 s. Temperatura determinărilor a fost de 20°C, iar concentrațiile proteice ale eluatelor au fost de $2 \cdot 10^{-3}$ g%.

Difuzia în gel și imunoelectroforeza. Serul imun anticotiledon a fost obținut prin inocularea la iepuri a soluției proteice extrase din cotiledoane. S-au făcut 6 inoculări timp de 24 zile. Cantitatea totală de proteină injectată a fost de 120 mg. Titrul serului precipitant s-a determinat prin metoda Uhlenhuth [18]. S-a găsit, pentru serul utilizat în determinările de difuzie în gel și imunoelectroforeză, un titru de 0,4 μg/ml antigen.

Difuzia în gel s-a făcut după metoda O. Ouchterlony [19], folosind o soluție de agar-agar 1% în tampon Longsworth. Difuzia s-a făcut la temperatura camerei. Prelucrarea plăcilor s-a executat după metodele curente [20].

Imunoelectroforeza s-a efectuat după metoda dată de Grabar și Williams [21]. S-au utilizat aceleași condiții de electroforeză ca în tehnica pe agar-agar. Interpretarea rezultatelor s-a făcut ținînd seama de poziția, forma și numărul liniilor de precipitare [21], [22].

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Trebuia precizat de la început dacă există deosebiri între proteinele din cotiledoane și restul embrionului. În consecință, am recurs la fracționarea lor cu sulfat de amoniu, metodă care furnizează date asupra unui complex de proprietăți fizico-chimice ale moleculei proteice. Rezultatele înfățișate (fig. 1) arată că proteinele din cele două formațiuni prezintă deosebiri atît în ceea ce privește gradul de heterogenitate, cît și în privința solubilității în sulfat de amoniu.

Proteinele din cotiledoane şi restul embrionului sînt amestecuri constituite dintr-un număr diferit de componente. Astfel, prin derivarea grafică a curbelor înfăţişate, se pot determina 6 componente pentru proteinele cotiledoanelor şi numai 4 pentru cele din restul embrionului. Şi în privinţa solubilităţii în sulfat de amoniu, cele două grupuri de proteine prezintă deosebiri semnificative. Din alura generală a curbelor se observă o distribuţie diferită a grupărilor hidrofile libere. La semisaturarea soluţiilor proteice cu sulfat de amoniu sînt precipitate abia 30% din proteinele cotiledoanelor, în timp ce proteinele din restul embrionului sînt scoase din soluţie în proporţie de 65%. Aceste deosebiri apar mai pregnant la concentraţii mai mari în sulfat de amoniu. La o concentraţie salină de 80%, proteinele din embrion sînt precipitate aproape în întregime, în timp ce proteinele din cotiledoane nu pot fi precipitate complet decît la saturarea soluţiei cu sulfat de amoniu. Există deci deosebiri şi în ceea ce priveşte distribuţia fracţiunilor acvosolubile (albumine) între cele două grupuri de proteine.

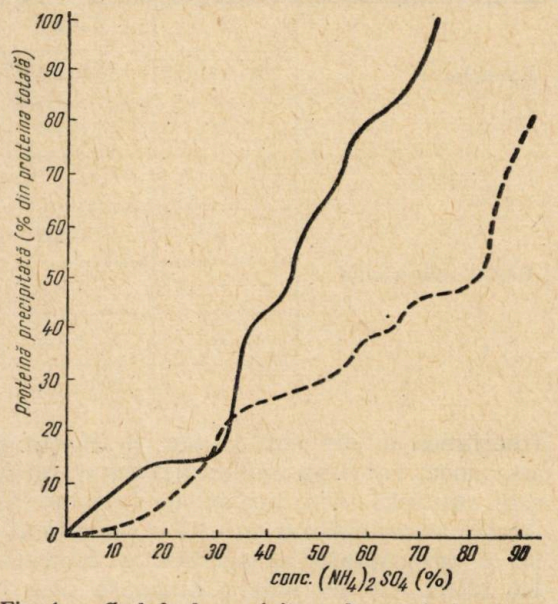


Fig. 1. — Curbele de precipitare ale proteinelor totale din cotiledoane (linia întreruptă) şi din restul embrionului (linia continuă) în funcţie de concentraţia în sulfat de amoniu.

Deşi metoda precipitării fracţionate relevă importante deosebiri între proteinele toale din cotiledoane şi restul embrionului, nu este exclus ca la nivelul acestor formaţiuni să existe un fond proteic comun, format din fracţiuni proteice identice sau care prezintă mari asemănări între ele.

Fracţiunile proteice ale proteinelor din cotiledoane şi restul embrionului se pot evidenţia prin electroforeză (fig. 2).

Proteina totală din restul embrionului se separă în cinci fracţiuni distincte, notate cu *a*, *b*, *c*, *d* şi *e*. Fracţiunea *a* se evidenţiază numai în condiţii în care separarea electroforetică a celorlalte fracţiuni nu decurge satisfăcător (fig. 2, elfograma 2), de aceea fracţiunea *a* s-a studiat de obicei împreună cu fracţiunea *b*.

Proteinele din cotiledoane se separă în trei fracţiuni care s-au notat cu *l*, *m* şi *n*. Dintre acestea, fracţiunea *l* reprezintă componentul majoritar, dotat cu viteza de migrare cea mai mare (tabela 1).

Comparînd mobilităţile electroforetice ale fracţiunilor separate, constatăm că fiecare component are o viteză de migrare caracteristică. Se pot totuşi observa mobilităţi electroforetice oarecum apropiate între

Tabela 1

Electroforeza proteinelor din embrion și cotiledon

Formațiunea	Denumirea fracțiunilor	Mobilitatea ($x10^{-5}$ $cm^2/s/v$)	Fr. proteică %	Fr. lipoproteică %	Fr. glicoproteică neutră %
Cotiledoane	l	−2,0	76,2	100	85,5
	m	−1,4	13,4	—	14,5
	n	−1,0	10,4	—	—
Restul embrionului	a	—	28,9	—	27,1
	b	−2,6		—	72,9
	c	−2,2	26,3	—	—
	d	−1,6	25,9	—	—
	e	−1,3	18,9	—	—

fracțiunea *m* din cotiledoane și fracțiunea *e* din restul embrionului. De asemenea, valoarea mobilității electroforetice a fracțiunii *l* din cotiledoane este cuprinsă între acelea ale fracțiunilor *c* și *d* din restul embrionului. Aceste asemănări nu au însă o semnificație deosebită, deoarece se bazează pe o proprietate nespecifică a moleculei proteice — sarcina electrică. De altfel, ele nu sînt confirmate prin cercetarea solubilității în sulfat de amoniu a diferitelor fracțiuni electroforetice. Se constată că fiecare din fracțiunile proteice are un interval caracteristic de precipitare, cu excepția componentelor *a* + *b* și *d* care precipită în intervalul 15—60% sulfat de amoniu (tabela 2).

Tabela 2

Precipitarea fracțiunilor electroforetice cu sulfat de amoniu

Concentrația $(NH_4)_2SO_4$ %	Restul embrionului				Cotiledoane		
	a + b	c	d	e	l	m	n
15	+	−	+	−	−	−	−
23	+	−	+	−	−	−	−
33	+	−	+	−	+	+	−
38	+	+	+	−	+	+	−
43	+	+	+	+	+	+	−
50	+	+	+	+	+	+	+
60	+	+	+	+	+	+	+
80	−	+	−	−	+	+	+
100	−	−	−	−	+	−	−

Datele experimentale arată că deși precipitarea diferitelor fracțiuni începe la concentrații diferite de sulfat de amoniu, în precipitatele obți-

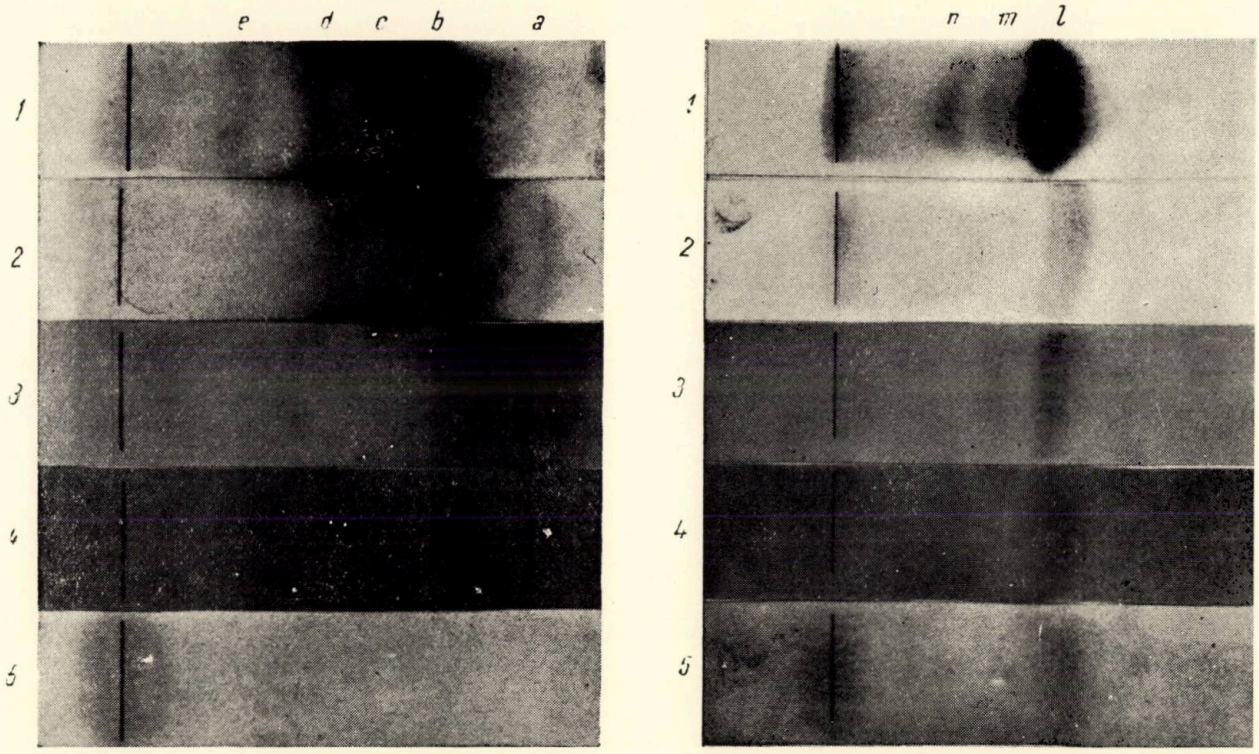


Fig. 2. — Elfogramele pe hîrtie ale proteinelor din cotiledoane și restul embrionului. Restul embrionului:

1–2 – proteina totală; *3* — glicoproteine neutre; *4* – glicoproteine acide; *5* — lipoproteine.

Cotiledoane: *1* — proteina totală; *2* – proteina totală extrasă în soluție de n-butanol 10%; *3* — glicoproteine neutre; *4* – glicoproteine acide *5* — lipoproteine.

nute la semisaturare, după îndepărtarea fracţiunii precipitate la 43%, se regăsesc toate fracţiunile electroforetice. O parte din fracţiunea *l* (aprox. 10%) nu precipită decît la saturarea soluţiei proteice cu sulfat de amoniu. Acest fapt a fost confirmat şi prin dializa proteinei totale din cotiledoane faţă de apa distilată. La echilibrare se constată că aproximativ 10% din fracţiunea *l* rămîne în supernatant, manifestînd deci acvosolubilitate.

În proteinele din restul embrionului, după îndepărtarea precipitatului obţinut la o concentraţie de 80% sulfat de amoniu, în supernatant rămîn cantităţi atît de mici dintr-o proteină acvosolubilă, încît încercările

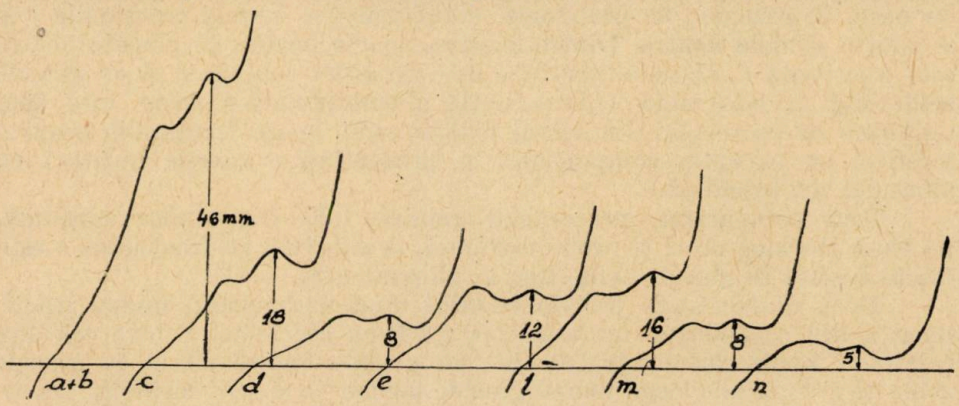


Fig. 3. — Polarogramele fracţiunilor proteice din cotiledoane şi restul embrionului.

de a o identifica pe cale electroforetică cu fracţiunea *a* nu au dat rezultate. Totuşi, fracţiunea *a* poate fi considerată ca proteina acvosolubilă (albumina) din restul embrionului atît din cauză că dintre toate fracţiunile proteice din restul embrionului ea are cea mai mare mobilitate electroforetică, cît şi datorită comportării ei polarografice (fig. 3).

Se observă că fracţiunea $a + b$ are cea mai înaltă dublă treaptă proteică. Înălţimea acestor două fracţiuni analizate împreună este aproximativ de trei ori mai mare decît media înălţimii celorlalte fracţiuni, ceea ce indică caracterul lor albuminic [23].

În experienţa în care s-au analizat polarografic eluate numai din fracţiunea *a* s-a observat că aceasta are o dublă treaptă proteică, înaltă, ceea ce pare a indica că din cuplul $a + b$ numai fracţiunea *a* are caracter albuminic. În restul embrionului poate exista deci o fracţiune proteică acvosolubilă, însă ea se găseşte în cantitate mai mică decît în cotiledoane.

Ca şi metodele precedente, polarografia arată că fiecare fracţiune electroforetică are însuşiri caracteristice. Comparînd la toate fracţiunile electroforetice atît înălţimea treptei II cît şi raportul dintre treapta I şi II, se constată că prezintă identitate tocmai acele fracţiuni (*d* şi *m*) care s-au arătat a fi net deosebite în ceea ce priveşte mobilitatea electroforetică şi solubilitatea în sulfat de amoniu. Deci, în cazul de faţă, analiza polarografică a fracţiunilor electroforetice nu întăreşte asemănările care

se pot stabili între diferite fracțiuni pe baza vitezei lor de migrare electroforetică.

Diferențierea dintre proteinele cotiledoanelor și acelea din restul embrionului se reliefează și mai evident dacă examinăm complexele diferitelor fracțiuni electroforetice cu glucidele și lipidele. Existența glicoproteinelor și lipoproteinelor a fost semnalată în regnul vegetal [24], [25], însă pînă în prezent natura și proprietățile acestor cenapse vegetale sînt prea puțin cunoscute.

Se constată (fig. 2, elfograma 3) că fracțiunile *a* și *b* din proteinele din restul embrionului sînt glucoproteine neutre cu un conținut destul de mare în glucide; în proteinele cotiledoanelor numai fracțiunile *l* și *m* conțin glucide neutre. Dintre acestea, foarte bogată în glucide neutre este fracțiunea *l*. Această fracțiune este de altfel conjugată și cu glucide acide (fig. 2, elfograma 4).Distribuția glucoproteinelor acide este mai uniformă la proteinele din restul embrionului, toate fracțiunile electroforetice, cu excepția componentei *a*, prezentînd o reacție pozitivă cu albastrul de toluidină.

Prin compararea procentelor relative ale fracțiunilor obținute, pe baza glucidogramei și proteinogramei, se constată că fracțiunea *e* este foarte bogată în glucide acide (fig. 2, elfograma 4).

Deci, dintre toate proteinele celor două formațiuni, numai fracțiunea *n* din cotiledoane nu este conjugată cu glucidele. Dintre celelalte fracțiuni, unele sînt conjugate atît cu glucide neutre cît și cu glucide acide (*l* și *b*), altele leagă numai glucide neutre (*a* și *m*); însfîrșit, fracțiunile *c*, *d* și *e* din embrion sînt complexate numai cu glucide acide.

Complexe lipoproteice nu există în restul embrionului. Dacă extractele proteice nu se centrifughează decît la 4 000 g, atunci în regiunea startului se obține totuși o coloratie specifică pentru lipoproteine (fig. 2, elfograma 5). Această fracțiune lipoproteică dispare însă aproape complet dacă extractele proteice din embrion sînt centrifugate la 11 800 g. Este vorba deci de mitocondrii sau de fragmente din mitocondrii bogate în lipide, care nu se pot elimina din extracte decît sub influența unui cîmp gravitațional mare.

În extractele obținute din cotiledoane se poate la fel evidenția în regiunea startului o fracțiune lipoproteică, care dispare prin centrifugare la 11 800 g. Spre deosebire de embrion, în citoplasma cotiledoanelor există o componentă lipidică conjugată cu fracțiunea electroforetică *l* (fig. 2, elfograma 5). Fracțiunea *l* este deci o cenapsă gluco-lipoproteică. Devine explicabilă acum comportarea deosebită a acestei fracțiuni la precipitarea cu sulfat de amoniu (tabela 2). Precipitarea fracțiunii *l* începe la o concentrație relativ scăzută în sulfat de amoniu, datorită componentului lipoidic hidrofob cu care este asociată această fracțiune proteică. Precipitarea se termină abia la saturarea soluției în sulfat de amoniu, ceea ce înseamnă că nu toată fracțiunea *l* este o cenapsă lipoproteică, ci o parte din ea se găsește necombinată sau intră în asociație cu glucidele.

Complexul lipoproteic poate fi disociat fără a se modifica proprietățile proteinelor, cu ajutorul unei soluții de n-butanol [26]. Extracția proteinelor din cotiledoane s-a făcut cu o soluție apoasă de n-butanol

10%. Analiza electroforetică a arătat că fracţiunea *l* eliberată de componenta lipidică se separă în două subfracţiuni (fig. 2, elfograma 5). Fracţiunea *l* este deci o proteină heterogenă formată din cel puţin două subfracţiuni care se asociază prin intermediul componentei lipidice sau chiar glucidice, formînd un complex gluco-lipoproteic.

În cotiledoanele seminţelor exalbuminate masa principală a proteinelor este alcătuită din proteinele de rezervă, de aceea fracţiunea *l*, care am găsit că reprezintă 76,2% din proteinele totale, poate fi considerată ca proteină de rezervă a seminţelor de fasole. Fracţiunea *l*, proteina de rezervă, reprezintă un material proteic caracteristic pentru cotiledoane, fiind depusă în grăunciorii de aleuronă ai celulelor, sub forma unui complex gluco-lipoproteic.

Celelalte fracţiuni electroforetice evidenţiate atît în cotiledoane cît şi în restul embrionului, reprezintă probabil o parte din sistemul protoplasmatic al celulelor. Aceste proteine protoplasmatice se găsesc deci în toate celulele din cotiledoane şi restul embrionului, în timp ce proteinele de rezervă sînt localizate în celulele cotiledoanelor.

Fiind răspîndite în întreaga sămînţă, proteinele protoplasmatice pot să reprezinte fondul proteic comun al celor două formaţiuni. Datele noastre experimentale au arătat însă că se pot stabili asemănări doar între fracţiunea *m* a cotiledoanelor şi fracţiunea *e* a cotiledoanelor. Celelalte fracţiuni sînt net diferite. Astfel, nu există în embrion o fracţiune asemănătoare cu componentul *n* al cotiledoanelor, după cum în acestea nu se poate individualiza o fracţiune echivalentă cu componentul *b* din restul embrionului.

Deci, la nivelul proteinelor protoplasmatice pot exista atît fracţiuni proteice specifice embrionului sau cotiledoanelor, cît şi fracţiuni proteice distribuite în ambele formaţiuni.

Pentru a stabili caracterul proteic al cotiledoanelor şi restului embrionului, precum şi gradul de înrudire dintre proteinele acestor două formaţiuni, am recurs la caracterizarea fracţiunilor proteice, prin metode imunochimice specifice. Deoarece S. Nakamura şi colaboratori [27] au constatat că în seminţele unor leguminoase există fracţiuni proteice care dau reacţia de precipitare cu proteinele serice animale, a trebuit să cercetăm, în prealabil, în ce măsură între proteinele seminţelor de fasole şi proteinele serului de iepure neimunizat au loc astfel de reacţii nespecifice. S-a constatat, prin reacţii de precipitare în mediu lichid (Uhlenhuth), că într-adevăr în sămînţa de fasole există precipitine nespecifice, fapt semnalat de altfel de I. Kloz şi colaboratori [6]. Această reacţie nespecifică nu stînjeneşte însă cercetările imunochimice pe gel, deoarece sensibilitatea metodelor de difuzie în mediu solid este mult mai mică decît a metodelor de precipitare în mediu lichid. De aceea, în condiţiile noastre de lucru nu s-au obţinut linii de precipitare nespecifice între proteinele din sămînţa de fasole şi proteinele serice ale iepurelui neimunizat.

Prin metoda difuziei în gel s-a observat de la început că între proteinele din embrion şi cotiledoane există fracţiuni care, din punct de vedere imunochimic, sînt identice. Astfel, cercetînd numărul liniilor de precipitare care se formează între serul imun anticotiledon pe de-o parte, şi

proteinele din cotiledoane și din restul embrionului pe de altă parte, s-au numărat pentru reacția ser anticotiledon — proteină din cotiledoane 6 linii de precipitare, iar pentru reacția ser anticotiledon — proteină din restul embrionului numai trei linii de precipitare. Între proteinele din cotiledoane și cele din restul embrionului există deci cel puțin 3 antigeni comuni.

Pentru a preciza care dintre fracțiunile electroforetice provoacă aceste reacții de precipitare încrucișate între proteinele din cotiledoane și restul embrionului, am folosit metoda imunoelectroforezei.

Electroforeza în gel de agar-agar a celor două proteine a confirmat în linii generale datele furnizate de electroforeza pe hîrtie (fig. 4).

Se observă că fracțiunile *m* din cotiledoane și *a* din restul embrionului sînt heterogene, separîndu-se fiecare în două componente notate a_1, a_2 — respectiv m_1 și m_2. La proteinograma cotiledoanelor se evidențiază o fracțiune cu mobilitate electroforetică mai mare decît fracțiunea *l*. Această fracțiune, notată *k*, nu se putea distinge de fracțiunea *l* în electroforeza pe hîrtie. Ea reprezintă probabil proteina acvosolubilă a cotiledoanelor. În ambele proteinograme se observă în regiunea startului urme de proteină. Nu s-a putut însă preciza dacă proteina care rămîne în excavația startului este o fracțiune proteică propriu-zisă deoarece în electroforeza pe gel de agar-agar se adsoarbe de obicei în această zonă o cantitate oarecare de proteină [28].

Imunoelfograma proteinelor din cotiledoane arată așa cum era de așteptat, formarea arcurilor de precipitare specifice la nivelul tuturor fracțiunilor electroforetice. În dreptul fracțiunii *l* se formează două arcuri de precipitare, ceea ce confirmă faptul că această fracțiune nu posedă o structură unitară, fiind formată din două subfracțiuni cu caractere antigenice diferite. Faptul că pentru fracțiunea heterogenă *m* s-a putut evidenția decît un singur arc de precipitare, arată că fracțiunea dată — cu toate că din punct de vedere imunochimic posedă o structură unitară, este formată din două populații diferite de molecule (m_1 și m_2) fiecare avînd o mobilitate electroforetică determinată [21], [22].

Imunoelfograma proteinelor din restul embrionului efectuată cu ser imun anticotiledon, indică formarea arcurilor de precipitare în dreptul fracțiunilor *e* și *c*. Deasupra ultimei fracțiuni se observă două arcuri de precipitare cu concavitatea mică, așezate la distanță unul de altul, arcul de deasupra avînd maximul plasat cam pe aceeași verticală ca și arcul inferior. Forma și poziția acestor două arcuri de precipitare nu permite să afirmăm cu certitudine că fracțiunea *c* este heterogenă, fiind posibil ca dublarea zonei de precipitare să fie legată de heterogenitatea anticorpului respectiv [21].

În ambele imunoelfograme se constată în dreptul startului prezența arcurilor de precipitare. Aceste arcuri de precipitare pot fi provocate atît de proteina totală adsorbită în zona startului, cît și de o fracțiune proteică propriu-zisă, de aceea formarea lor nu a adus clarificări în această direcție. Totuși, nu este exclus că în zona startului să rămînă adsorbită fracțiunea microzomică a celulelor, care nu se depune la 11 800 g și deci este prezentă în extractul proteic analizat.

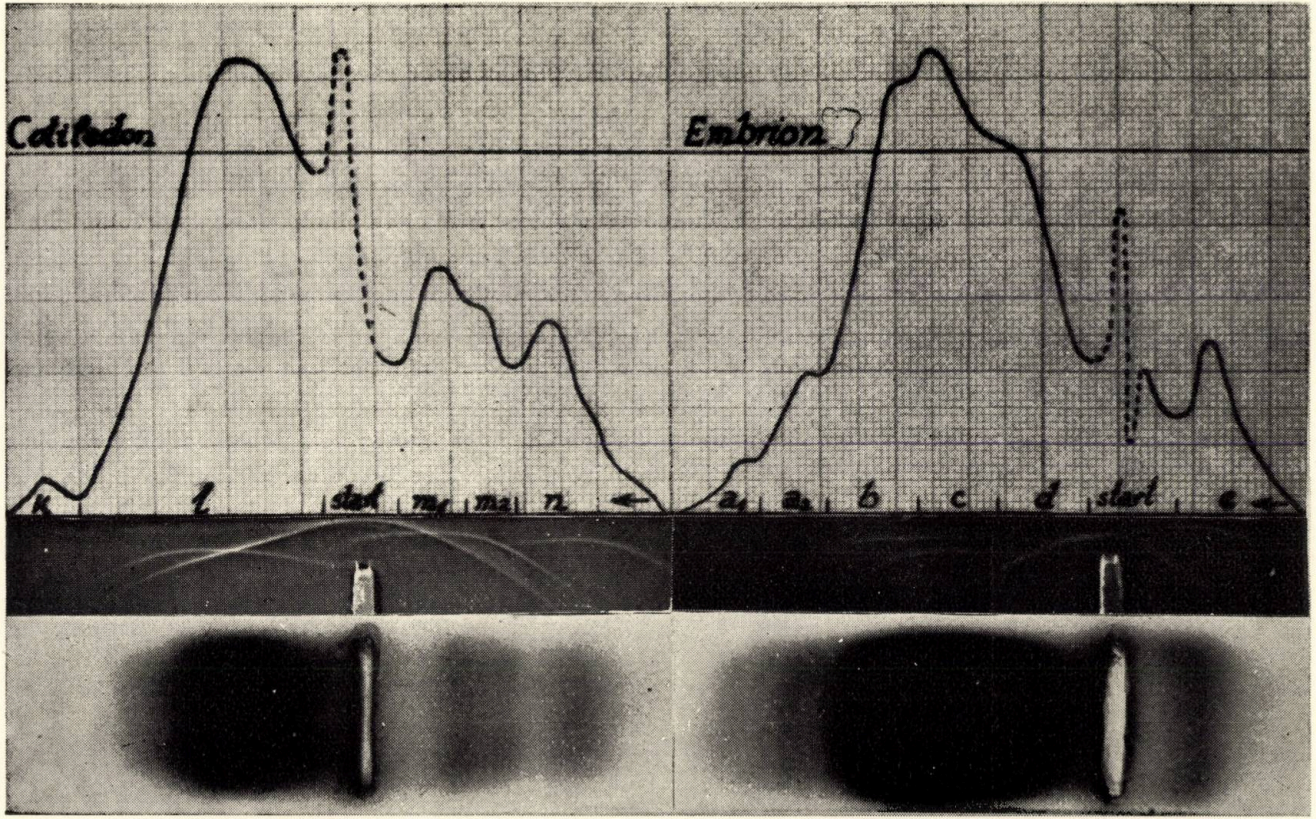


Fig. 4. — Elfogramele pe gel de agar-agar și imunoelfogramele proteinelor din cotiledoane și restul embrionului.

În dreptul fracţiunii *a* nu s-a obţinut nici un arc de precipitare, deşi este posibil ca cel puţin una din subfracţiunile ei (a_1 sau a_2) să posede caractere imunochimice comune cu fracţiunea *k* a cotiledoanelor. Acest fapt s-a dovedit prin efectuarea unei reacţii de precipitare prin difuzie în gel, între serul imun anticotiledon şi proteinele acvosolubile din cotiledoane (*k*) şi din restul embrionului (*a*). Fracţiunile acvosolubile s-au separat de celelalte fracţiuni prin dializa prelungită a extractului proteic total faţă de apa distilată şi îndepărtarea precipitatului obţinut. Supernatantele s-au concentrat şi s-au analizat imunochimic. Între fracţiunea acvosolubilă a cotiledoanelor şi fracţiunea acvosolubilă din restul embrionului s-a obţinut o reacţie imunochimică încrucişată, ceea ce dovedeşte că aceste fracţiuni au structură imunochimică similară.

În urma acestor rezultate putem trage concluzia că în proteinele din cotiledoane există fracţiuni echivalente cu componentele proteice *a*, *c* şi *e* din restul embrionului. Acest fapt s-a verificat prin precipitarea (absorbţia) anticorpilor din serul imun anticotiledon cu proteinele din restul embrionului. Serul imun absorbit a format un arc de precipitare cu proteinele din cotiledoane numai în dreptul fracţiunii *n*, anticorpii corespunzători fracţiunilor *k*, *l* şi *m* fiind îndepărtaţi prin precipitare cu fracţiunile proteice *c* şi *e* din restul embrionului.

Faptul că în restul embrionului fracţiunea *c* este echivalentă cu fracţiunea *l* arată că sinteza proteinelor de rezervă are loc nu numai în cotiledoane ci şi în embrion. Prezenţa proteinei de rezervă în ambele formaţiuni se poate explica astfel: o fracţiune proteică care se sintetizează atît în embrion cît şi în cotiledoane poate să se complexeze, în procesul maturării seminţei, cu lipidele. Această complexare are loc mai ales în cotiledoane, datorită faptului că în această parte a seminţei se produc acumulări de lipide [29]. Prin complexare cu lipidele, fracţiunea proteică respectivă îşi micşorează solubilitatea şi se depune în celule în grăunciorii de aleuronă. Astfel, conform legii maselor, în reacţia *aminoacizi* $\rightleftharpoons$ *fracţiunea proteică* echilibrul va fi deplasat spre formarea unei cantităţi noi din fracţiunea proteică respectivă. Prin acest mecanism, fracţiunea se va acumula în cantitate mare în celulele cotiledoanelor, constituind proteina de rezervă.

În celulele restului embrionului fracţiunea respectivă nu este conjugată cu lipidele, de aceea sinteza ei decurge în acelaşi ritm cu celelalte fracţiuni. Ştiind, pe de-o parte că fracţiunea *l* reprezintă aproximativ 75% din proteinele cotiledoanelor şi fracţiunea *c* cam 25% din proteinele restului embrionului, iar pe de altă parte că proteinele embrionului reprezintă aproximativ 1% din proteinele seminţei, se poate calcula că în cotiledoane proteina de rezervă se găseşte într-o cantitate de aproximativ 300 ori mai mare decît în embrion.

Rezultatele obţinute arătă că prin aplicarea metodelor moderne imunochimice şi fizico-chimice se pot compara caracterele proteice ale diferitelor formaţiuni, la nivelul fracţiunilor ce alcătuiesc complexele proteice respective. Aşa cum a preconizat şi O. Moritz [30], aplicarea

acestor metode conduce la rezultate mult mai concludente privind specificitatea proteinelor vegetale decît cele obținute prin reacțiile serologice cantitative folosite pe scară largă în prezent [6].

CONCLUZII

Coroborarea datelor furnizate de analiza fizico-chimică și imunochimică asupra caracterului proteic al embrionului și cotiledoanelor, conduce la următoarele concluzii generale:

1. În semințele exalbuminate de fasole, proteinele din cotiledoane nu sînt identice cu cele din restul embrionului. Proteinele protoplasmatice sînt distribuite în ambele formațiuni, în timp ce proteinele de rezervă sînt depuse mai ales în cotiledoane.

2. Fiecare formațiune conține proteine protoplasmatice specifice (fracțiunile *b* și *d* pentru restul embrionului fracțiunea *n* pentru cotiledoane) alături de alte proteine protoplasmatice pe care le conține în comun cu cealaltă formațiune (fracțiunile acvosolubile *a* și *k* și fracțiunile *e* și *m*).

Proteinele protoplasmatice care au caractere imunochimice comune, prezintă însă diferențe în ceea ce privește natura glucidei cu care sînt conjugate. De exemplu, fracțiunea *c* din restul embrionului este complexată cu o glucidă acidă, în timp ce fracțiunea *m* este legată de o glucidă neutră. De asemenea, între aceste proteine s-au semnalat deosebiri marcate în ceea ce privește comportarea polarografică și salifierea lor. De aceea, se poate considera că reacțiile imunochimice încrucișate între proteinele protoplasmatice din cotiledoane și restul embrionului nu sînt cauzate de asemănarea întregii molecule, ci numai de corespondența unui număr oarecare de grupări determinante.

3. Proteinele de rezervă din cotiledoane sînt depuse în celule sub forma unui complex gluco-lipoproteic (fracțiunea *l*). O cantitate mică din proteinele de rezervă se găsește însă și în restul embrionului, fapt dovedit prin reacția imunochimică încrucișată realizată între fracțiunea *l* și fracțiunea *c* din restul embrionului. Deci, sinteza proteinelor de rezervă nu are loc exclusiv în cotiledoane, așa cum se consideră în prezent [1], [4].

4. Metabolizarea proteinelor în procesul maturării sau germinării s-a studiat pînă în prezent folosind preparate proteice obținute din sămînța întreagă, nedisociată în părțile ei componente [1], [4]. De aceea, modificările observate la nivelul componentelor proteice nu s-au putut corela satisfăcător cu schimbările morfologice și funcționale ce se petrec în diferite părți ale seminței în cursul maturării și germinării.

Din cercetările noastre se desprinde concluzia că pentru a înlătura dificultățile de interpretare, trebuie studiate modificările proteinelor la nivelul tuturor formațiunilor ce alcătuiesc sămînța, deoarece fiecare formațiune are un caracter proteic distinct.

În viitor, vom aborda problema metabolizării proteinelor în procesul germinativ pornind de la acest punct de vedere.

Mulţumim doctorului M. Ţaga de la Institutul Dr. I. Cantacuzino pentru concursul acordat la efectuarea părţii de imunochimie a acestei lucrări.

Prezentată la redacţie la 31 ianuarie 1961

Institutul de biochimie
al Academiei R.P.R., Bucureşti

ЗАПАСНЫЕ И ПРОТОПЛАЗМАТИЧЕСКИЕ БЕЛКИ СЕМЯН ФАСОЛИ *(PHASEOLUS VULGARIS)*

РЕЗЮМЕ

В работе показано, что в лишенных эндосперма семенах фасоли, белки семядолей не одинаковы с белками остальных частей зародыша. Протоплазматические белки распределены в обоих образованиях, в то время как запасные белки находятся преимущественно в семядолях.

Каждое образование содержит специфические протоплазматические белки наряду с другими протоплазматическими белками, общими для обоих образований.

Запасные белки откладываются в семядолях в виде глюколипобелкового комплекса. Небольшое количество запасных белков, не связанных с липоидами, находится в остальной части зародыша; это доказывает, что их синтез не происходит исключительно в семядолях, как считается в настоящее время.

В работе также представлен вероятный механизм образования запасных белков, объясняющий почему они накопляются преимущественно в семядолях.

ОБЪЯСНЕНИЕ РИСУНКОВ

Рис. 1. — Кривые осаждения общих белков семядолей (прерывистая линия) и остальной части зародыша (непрерывная линия) в зависимости от концентрации сернокислого аммония.

Рис. 2. — Электрофореграмма на бумаге белков семядолей и остальной части зародыша. Остальная часть зародыша: *1, 2*, — общее содержание белков; *3* — нейтральный глюкопротеин; *4* — кислые глюкопротеины; *5* — липопротеины. Семядоли: *1* — общее содержание белков; *2* — общее содержание белков, экстрагированных 10 %-ным раствором *n*-бутанола; *3* — нейтральные глюкопротеины; *4* — кислые глюкопротеины; *5* — липопротеины.

Рис. 3. — Полярограммы белковых фракций семядолей и остальной части зародыша.

Рис. 4. — Электрофореграммы на агар-агаровом геле и иммуно-электрофореграммы белков семядолей и остальной части зародыша.

LES PROTÉINES DE RÉSERVE ET LES PROTÉINES PROTOPLASMIQUES DE LA SEMENCE DE HARICOT (*PHASEOLUS VULGARIS*)

RÉSUMÉ

Il a été démontré que, dans les semences désalbuminées de haricots, les protéines des cotylédons ne sont pas identiques à celles qui se trouvent dans le reste de l'embryon. Les protéines protoplasmiques sont distribuées dans les deux formations, tandis que les protéines de réserve se déposent surtout dans les cotylédons.

Chaque formation contient des protéines protoplasmiques spécifiques, à côté d'autres protéines protoplasmiques, qu'elle possède en commun avec l'autre formation.

Les protéines de réserve se déposent dans les cotylédons sous la forme d'un complexe glyco-lipoprotéique. Une petite quantité de protéines de réserve, non associée aux lipides, se trouve cependant dans le reste de l'embryon, ce qui prouve que leur synthèse n'a pas lieu exclusivement dans les cotylédons, comme on le considère actuellement.

Un mécanisme hypothétique de formation des protéines de réserve, qui expliquerait les causes déterminantes de leur accumulation avec prédominance dans les cotylédons, est également présenté.

EXPLICATION DES FIGURES

Fig. 1. — Courbes de précipitation des protéines totales des cotylédons (tirets) et de celles du reste de l'embryon (tracé continu), fonction de la concentration en sulfate d'ammonium.

Fig. 2. — Electrophorégrammes sur papier des protéines des cotylédons et du reste de l'embryon.

Le reste de l'embryon : *1* et *2* — protéines totales ; *3* — glycoprotéines neutres ; *4* — glycoprotéines acides ; *5* — lipoprotéines. Les cotylédons : *1* — protéines totales ; *2* — protéines totales extraites à l'aide d'une solution de *n*-butanol à 10% ; *3* — glycoprotéines neutres ; *4* — glycoprotéines acides ; *5* — lipoprotéines.

Fig. 3. — Polarogrammes des fractions protéiques des cotylédons et du reste de l'embryon.

Fig. 4. — Electrophorégrammes sur gel d'agar-agar et immunophorégrammes des protéines des cotylédons et du reste de l'embryon.

BIBLIOGRAFIE

1. S. Brohult, E. Sandegren, *Seed Proteins* în H. Neurath, K. Bailey, *The Proteins*. Acad. Press. Inc., New York, 1953, **II**, p. A, 487.
2. Е. В. Колобкова, *Азотистый обмен созревающих семян кукурузы*. ДАН СССР, **120**, *4*, 907 (1958).
3. E. Mertz, N. Lloyd, R. Bressani, *Studies on corn proteins. II Electrophoretic analysis of germ and endosperm extracts*. Cereal Chem., **35**, *2*, 146 (1958).

4. E. W. YEMM, *The plant proteins and peptides and their localization in cells and tissues* în W. RUHLAND, *Handbuch der Pflanzenphysiologie*. Springer Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg, 1958 **VIII**, 315.
5. C. E. DANIELLSON, *Seed globulins of the graminae and leguminosae*. Biochem. J., **44**, 387 (1949).
6. J. KLOZ, V. TURKOVÁ, E. KLOZOVÁ, *Serological investigation of taxonic specificity of proteins in various plant organs in some taxons of the family Viviaceae*. Biol. Plantarum (Praha), **2**, *2*, 126 (1960).
7. L. M. DZIALOSZYNSKI, *Colorimetric microdetermination of protein*. IV—International Congress of Biochemistry , Wien, sect. 17—13, 199 (1958).
8. J. LOISELEUR, *Techniques de laboratoire*. Masson, Paris, 1954, **I**, 586.
9. J. KOWALCZYK, *Sravnenie treh metodov kolicestvenoi oţenki proteinogramm sîvorotki krovi, polucennîh metodom elektroforeza*. Chem. Analit. (Polska), **4**, *3*, 589 (1959).
10. A. TITAEV, E. G. LARSKII, *Okraska gliukoproteidov na elektroforegrammah*. Lab. Delo, **5**, *3*, 25 (1959).
11. J. D. ROMANI, *La recherche et l'évaluation des glyco-protéines du sérum à l'aide de l'électrophorèse sur papier*. Presse méd., **62**, *76*, 1579 (1954).
12. E. BENHAMOU, I. PUGLIÈSE, J. C. CHICHE, P. ARNOUCH, *La microélectrophorèse sur papier avec le bleu de toluidine et ses applications pratiques*. Presse méd., **62**, *31*, 651 (1954).
13. H. J. MC DONALD, *A new approach to the staining of lipoproteins* în *Ciba foundation symposium on paper electrophoresis*. Churchill, London, 183 (1956).
14. H. G. KUNKEL, *Zone electrophoresis* în D. GLICK, *Methods of biochemical analysis*. Intersci. Publ., New York — London, 1954, 141.
15. R. PORTOCALĂ, V. BOERU, *Micrometoda electroforetică în gel de agar-agar*. Studii şi cercetări de inframicrobiol., **9**, *2*, 167 (1958).
16. J. HOMOLKA, *Detekce bilkovin pri elektroforese na papire*. Chem. Listy, **47**, *2*, 278 (1953).
17. J. HEYROVSKY, *Polarographie*. Springer, Wien, 1941, 392.
18. E. R. GOLD, *Imunologie practică*. Ed. medicală, Bucureşti, 1957, 145.
19. O. OUCHTERLONY, *Antigen-antibody reactions in gels. IV. Types of reaction in correlated systems of diffusion*. Acta Path. Scand., **32**, 231 (1953).
20. K. MEZROBEANU, C. ZILIŞTEANU, N. MITRICĂ, *Studiul imunoelectroforetic al serurilor antiom*. Med. internă, *1*, 153 (1959).
21. П. ГРАБАР, *Иммуно-электрофоретический анализ белков человеческой сыворотки*. Биохимия, **22**, *1—2*, 49 (1957).
22. J. HIRSCHFELD, *Shape of the precipitate in immunoelectrophoresis* Nature, **185**, *4707*, 164 (1960).
23. I. HOMOLKA, V. MYDLIL, *Blood proteins in infants from a quantitative and qualitative point of view*. Ann. Paed., **185**, 129 (1955).
24. F. HAUROWITZ, *Protein symplexes (Conjugated proteins)* în W. RAUHLAND, *Handbuch der Pflanzenphysiologie*. Springer Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg, 1958, **VIII**, 333.
25. А. В. БЛАГОВЕЩЕНСКИЙ, *Биохимия обмена азотсодержащих веществ у растений*. Изд. Акад. Наук СССР, Москва, 235 (1958).
26. Н. СИСАКИАН, С. МЕЛИК-САРКИСИАН, Е. БЕЗИНГЕР, *О химических и электрохимических свойствах белков пластид*. Биохимия **17**, 626 (1952).
27. S. NAKAMURA, K. TANAKA, S. MURAKAWA, *Specific proteins of legumes which reacts with animal proteins*. Nature, **188**, 4745, 144 (1960).
28. H. G. KUNKEL, R. TRAUTMAN, *Zone electrophoresis in various types of supporting media* în M. BIER, *Electrophoresis, theory, methods and applications*. Acad. Press. Inc., New York-London, 1959, 233.
29. A. ZELLER, *Die Mobilisierung der Fette bei der Keimung* în W. RUHLAND, *Handbuch der Pflanzenphysiologie*. Springer Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg, 1958, **VII**, 323.
30. O. MORITZ, *Die Serologie der pflanzlichen Eiweisskörper* în W. RUHLAND, *Handbuch der Pflanzenphysiologie*. Springer Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg, 1958, **VIII**, 356.

COACERVAREA FRACȚIUNILOR PROTEICE DIN SERUL SANGVIN UMAN DENATURAT PRIN CĂLDURĂ

DE

DAN MOȚET-GRIGORAȘ

Teoria după care atracția dintre sarcinile electrice opuse ale micelelor coloidale ar juca un rol determinant în formarea coacervatelor nu dă seama de o serie de fapte experimentale din literatură și din lucrările noastre anterioare. Astfel, nu se poate explica prin această teorie coacervarea unor substanțe neionizabile, după cum de altfel a remarcat și A. Dobry [1].

Pe de altă parte, în cursul unor cercetări asupra coacervatului care se obține din ser sangvin și gumă arabică la un pH de 3,5—3,6 am constatat că proteinele se denaturează în urma coacervării. Probe de control au arătat că această denaturare nu se datorește simplei modificări pentru scurt timp a pH-ului, ci însăși coacervării. Aceasta ar arăta că în coacervare intervin forțe mai puternice decît simplele atracții electrostatice. De altfel, o astfel de denaturare prin coacervare a serumalbuminei a fost observată și de către H. G. Bungenberg de Jong și colaboratori [2], [3] în cazul coacervării cu clupeină, respectiv gumă arabică. La coacervarea serului sangvin cu gumă arabică am observat apariția unei opalescențe în lichidul supernatant rămas de la centrifugarea coacervatului. Chiar prin centrifugare la 12 000 g nu se obține nici o sedimentare, în schimb opalescența dispare prin acidulare sau alcalizare. Atribuim această opalescență formării unui complex între proteinele serice și guma arabică. De altfel, formarea unor complexe a fost observată și înaintea noastră de către A. I. Oparin, M. S. Bardinskaia, S. S. Melik-Sarkisian și K. B. Serebrovskaia [4] în cazul sistemelor albumină serică-gumă arabică și de H. Yamane în cazul sistemelor serumalbumină-acizi nucleici [5] și ovalbumină-acizi nucleici [6].

Aceste fapte ne-au determinat ca în vederea cercetărilor noastre asupra proteinelor serice, efectuate cu ajutorul coacervării, să propunem

un nou punct de vedere în problema mecanismului coacervării. Deși deocamdată nu considerăm încă datele experimentale suficiente pentru a dovedi viabilitatea acestui punct de vedere, îl expunem, întrucît el s-a dovedit rodnic din punct de vedere practic, ca premisă de lucru, și a stat la baza unor lucrări efectuate sau în curs. În esență, considerăm coacervarea ca fiind datorită acțiunii forțelor de tip Van der Waals, formării de punți de hidrogen și chiar de legături de tip chimic. Gradul de hidratare specific coacervatului ar rezulta din competiția dintre moleculele solventului și grupările chimice ale unor micele coloidale, pentru grupările liofile ale altor micele.

În sprijinul punctului nostru de vedere am cercetat comportarea la coacervare a diferitelor fracțiuni proteice din serul sangvin uman în urma denaturării prin căldură. Era de așteptat să aibă loc o oarecare scădere a coacervabilității albuminelor și o creștere a coacervabilității fracțiunilor globulinice, pe baza următoarelor considerente: albuminele reprezintă fracțiunea cea mai hidrosolubilă, deoarece grupările lor hidrofile, cu afinitate pentru grupări de tipul —OH, sînt orientate spre exterior, iar cele lipofile spre interior. La denaturarea termică, prin depliere, ele evidențiază grupări lipofile, ceea ce face ca afinitatea pentru polizaharide să scadă. La globuline, în special la β- și γ- globuline, prin depliere se pun în evidență cel puțin o parte din grupările hidrofile mascate, ceea ce ar duce la o creștere a afinității pentru grupările —OH ale polizaharidului, mărind coacervabilitatea acestor fracțiuni proteice.

Pentru a verifica aceasta, era necesar ca în primul rînd să se stabilească participarea fracțiunilor proteice la coacervare, fără termodenaturare prealabilă. În acest scop, coacervatul cu gumă arabică l-am format adăugînd la 1 parte ser 1 parte gumă arabică 10% și 1 parte acid acetic 10%. După centrifugarea coacervatului am concentrat supernatantul 24 ore față de guma arabică, apoi am separat prin electroforeză fracțiunile proteice rămase necoacervate. Cantitatea de substanțe proteice, atît din supernatant cît și din ser, a fost determinată folosind tehnica de dozare prin metoda biuretului, adaptată de noi, precum și prin metoda D z i a l o s z y n s k i [8]. Probe martor au arătat că gradul de denaturare a proteinelor în experiențele noastre nu afectează aceste metode. Metodica de lucru a fost cea indicată într-o lucrare anterioară [9], cu deosebirea că pentru colorarea benzilor de electroforeză am utilizat tehnica de colorare după D u r r u m [10].

Pentru a putea compara rezultatele obținute, le-am exprimat pentru fiecare fracțiune proteică în grame proteină la 100 ml, în cazul supernatantului rămas de la centrifugarea coacervatului făcînd corecția de diluție, pentru a obține rezultate comparabile cu serul inițial. Rezultatele sînt redate în tabela 1.

Se poate observa încorporarea preferențială a albuminelor în coacervat (peste 4 g față de aprox. 1 g cît se înglobează în toate celelalte fracțiuni la un loc), în timp ce fracțiunile cele mai puțin coacervabile (procentual) sînt fracțiunile β- și γ, care la unele seruri sînt aproape necoacervabile.

Tabela 1

Cantitatea din fiecare fracțiune proteică rămasă în supernatant, necoacervată cu guma arabică, în comparație cu cantitatea corespunzătoare aflată inițial în serul sangvin respectiv

Seria de exp.	Proba	Fracțiuni proteice g%				
		A	α_1	α_2	β	γ
I	ser	4,37	0,27	0,60	0,98	1,37
	supernatant	0,18	0,15	0,25	0,57	0,98
II	ser	4,64	0,38	0,57	0,76	0,98
	supernatant	0,17	0,18	0,34	0,54	0,88
III	ser	4,11	0,29	0,56	1,01	1,23
	supernatant	0,30	0,12	0,14	0,55	0,91
IV	ser	3,98	0,40	0,66	1,20	2,20
	supernatant	0,41	0,27	0,54	1,15	1,68

Am trecut apoi la cercetarea propriu-zisă a participării fracțiunilor proteice la coacervare în urma denaturării prin căldură.

Am urmărit coacervabilitatea fracțiunilor proteice din serul ținut timp de 30 min la 56 $\pm$ 0,5°C sau la 60 $\pm$ 0,5°C și lăsat apoi să se răcească la temperatura camerei (25°C), după care am procedat ca și în cazul coacervării la temperatura camerei. Am ales temperatura de 56°C pentru semnificația ei în imunochimie. De altfel, sub această temperatură modificările nu sînt atît de evidente. Peste 60°C nu am făcut determinări, deoarece la 65°C serul coagulează.

Rezultatele obținute prin coacervarea după denaturare la 56, respectiv 60°C, sînt redate în tabela 2.

Examinînd tabela, ajungem la următoarele constatări care corespund prevederilor făcute pe baza presupunerilor noastre asupra mecanismului coacervării.

Albuminele coacervează aproximativ în aceeași proporție ca și în cazul serului nedenaturat, avînd tendința de a fi mai puțin coacervabile după o denaturare mai puternică (60°C). În urma denaturării termice α_1- și α_2-globulinele coacervează mai bine, iar β-globulinele coacervează net mai bine. O comportare mai puțin constantă au γ-globulinele.

Este de menționat că, spre a vedea ce modificări aduce această încălzire asupra aspectului electroforetic al serului, am făcut și electroforegramele serurilor care au suferit încălzirea timp de 30 min la 56°C, respectiv 60°C. Am constatat că încălzirea la 56°C nu modifică nici aspectul electroforetic calitativ, nici proporția fiecărei fracțiuni în parte, iar determinări pe gel de agar au arătat că nu se pot observa nici modificări de mobilitate a vreunei fracțiuni.

Este interesantă în schimb comportarea fracțiunilor proteice în urma încălzirii timp de 30 min la 60°C. Această încălzire determină o așa-numită „omogenizare electroforetică" a fracțiunilor proteice [11], adică scad albuminele și γ-globulinele și apare o fracțiune care, din

Tabela 2

Cantitatea din fiecare fracțiune proteică a serului denaturat termic, rămasă în supernatant, necoacervată cu guma arabică, în comparație cu cea care rămîne necoacervată în cazul serului sangvin nedenaturat

Temperatura	Seria de exp.	Proba	Fracțiuni proteice g %				
			A	α_1	α_2	β	γ
56°C	V	nedenaturat	0,18	0,15	0,25	0,57	0,98
		denaturat	0,16	0,08	0,21	0,51	0,74
	VI	nedenaturat	0,51	0,49	0,63	1,10	2,21
		denaturat	0,48	0,45	0,57	0,98	1,79
	VII	nedenaturat	0,50	0,22	0,46	1,11	2,21
		denaturat	0,45	0,17	0,27	0,67	1,44
	VIII	nedenaturat	0,69	0,08	0,39	0,92	1,52
		denaturat	0,64	—	0,17	0,56	1,32
	IX	nedenaturat	0,59	0,18	0,43	1,03	1,67
		denaturat	0,57	0,10	0,33	0,71	1,06
60°C	X	nedenaturat	0,41	0,20	0,18	1,05	2,44
		denaturat	0,64	0,17	0,14	0,27	1,60
	XI	nedenaturat	0,55	0,12	0,46	1,11	2,21
		denaturat	0,66	0,12	0,26	0,49	1,56
	XII	nedenaturat	0,17	0,18	0,34	0,54	0,86
		denaturat	0,17	0,12	0,14	0,33	0,79
	XIII	nedenaturat	0,74	0,44	0,47	1,15	2,23
		denaturat	1,20	0,19	0,29	0,60	2,19
	XIV	nedenaturat	0,41	0,27	0,52	1,08	2,10
		denaturat	0,80	0,17	0,43	0,67	1,23

punct de vedere al mobilității, se plasează în zona α - și β - globulinelor (fig. 1 *a*). În urma coacervării, această fracțiune dispare, reapărînd ceea ce rămîne necoacervat din fracțiunile α_1, α_2 și β (fig. 1 *b*). Deci această nouă fracțiune rezultată prin denaturare este în întregime coacervabilă și reprezintă o fracțiune distinctă de α_1, α_2 și β-globuline, fiind asemănătoare cu ele numai prin mobilitate.

În concluzie, am constatat că:

1. În urma denaturării termice albuminele au tendința de a deveni mai puțin coacervabile cu guma arabică, iar globulinele mai coacervabile, fapt care corespunde pe deplin celor prevăzute pe baza presupunerii noastre că nu sarcinile electrice sînt factorul determinant pentru coacervare. Aceasta cu atît mai mult cu cît în cazul încălzirii la 56°C mobilitatea electroforetică nu se modifică, deci nici sarcinile electrice care așadar nu pot fi responsabile de această schimbare de comportare.

Faptele de mai sus ne dau încă un argument în favoarea punctului nostru de vedere asupra mecanismului coacervării. Considerăm coacervarea ca fiind datorită acțiunii forțelor de tip Van der Waals, formării de punți de hidrogen și chiar de legături de tip chimic. Atunci cînd sarcinile electrice ale micelelor sînt contrarii, participă și ele la formarea complexului, prin legături de tip ionic, dar nu au un rol determinant în formarea coacervatului. Cînd particulele coloidale au o sarcină electrică de același semn, repulsia dintre aceste sarcini împiedică formarea coacervatului, deoarece nu permite o suficientă apropiere pentru ca forțele de legătură arătate să intre în joc. Aceasta ar explica de ce unele coacervate nu se formează decît între anumite limite de pH.

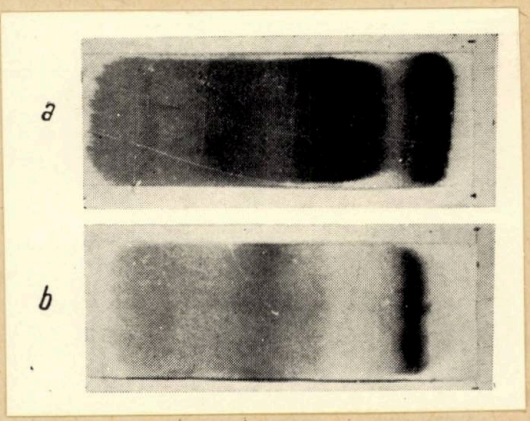


Fig. 1. — Electroforeza proteinelor din serul sangvin denaturat prin căldură (30 min la 60°C).
a — înainte de coacervare ; *b* — supernatantul rămas după centrifugarea coacervatului.

În ceea ce privește gradul de hidratare specific coacervatului, acesta ar rezulta din competiția dintre moleculele solventului și grupările chimice ale unor micele coloidale, pentru grupările liofile ale altor micele. Astfel, în cazul coacervatului proteine serice-gumă arabică, și probabil în general în cazul coacervatelor proteine-polizaharide, s-ar putea ca afinitatea unor grupări ale proteinelor pentru grupările — OH ale polizaharidelor să joace un rol important. Această afinitate este cu atît mai crescută cu cît proteina este mai hidrofilă, iar acest fapt ar explica de ce, după cum am arătat într-o lucrare anterioară [7], albuminele sînt mai coacervabile cu guma arabică decît globulinele.

Tot în sprijinul părerii noastre ar fi și faptul că presiunea osmotică în coacervate este foarte scăzută, deși concentrația este mare [1]. Aceasta s-ar explica de asemenea dacă am admite, după cum am arătat, existența de asociații moleculare prin formare de complecși.

2. Comportarea inegală la coacervare a γ-globulinelor în urma denaturării termice o atribuim anticorpilor, care bănuim că ar avea o comportare specială asupra căreia sînt în curs unele cercetări.

3. Prin metoda cercetării coacervabilității se pot sesiza denaturări fine ale fracțiunii proteice din serul sangvin, chiar în cazul cînd acestea nu apar electroforetic (încălzire 30 min la 56 °C). De altfel, chiar și operațiile de separare efectuate pentru a încerca să cercetăm fiecare fracțiune aparte au dus la o denaturare sensibilă pentru comportarea la coacervare. Acest fapt vine să sprijine părerea exprimată de E. Macovschi și M. Cârsteanu [12] care au arătat avantajul ce-l prezintă în unele tipuri de cercetări utilizarea coacervatelor cu proteine native.

Prezentată la redacție la 31 ianuarie 1961

Institutul de biochimie al Academiei R.P.R., București

КОАЦЕРВАЦИЯ БЕЛКОВЫХ ФРАКЦИЙ ЧЕЛОВЕЧЕСКОЙ КРОВЯНОЙ СЫВОРОТКИ, ДЕНАТУРИРОВАННОЙ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ТЕПЛА

РЕЗЮМЕ

В коацервации гуммиарабиком сывороточных белков участвуют преимущественно альбумины.

Для объяснения этого факта, а также ряда других известных фактов, автор выработал новую экспериментальную предпосылку, согласно которой для коацервации необходимо образование связей либо типа Ван-дер-Ваалса, либо водородных мостиков, либо даже химических связей.

В случае, если электрические заряды разноименны, это способствует коацервации, так как связи ионного типа содействуют образованию комплекса, но они не играют основной роли при коацервации, как считали до сих пор.

Исходя из указанной точки зрения, была исследована коацервация сывороточных белков, денатурированных под действием тепла. После сравнительно короткого нагрева до не слишком высокой температуры, способность коацервироваться изменяется для некоторых фракций. Это находится, по всей вероятности, в связи с появлением новых химических групп при развертывании молекул белков, что приводит к изменению способности коацервироваться по предложенному автором механизму.

Химическое очищение различных фракций также изменяет их способность коацервироваться, а потому подобные исследования необходимо проводить на цельной сыворотке.

ОБЪЯСНЕНИЕ РИСУНКА

Рис. 1. — Электрофорез белков кровяной сыворотки денатурированной теплом. (30 мин. на 60°C).

a — перед коацервацией; *b* — жидкость остающаяся после центрифугирования коацервата.

COACERVATION DES FRACTIONS PROTÉIQUES DU SÉRUM SANGUIN HUMAIN DÉNATURÉ PAR LA CHALEUR

RÉSUMÉ

Au phénomène de formation des coacervats des protéines sériques, à l'aide de la gomme arabique, les albumines participent d'une façon préférentielle.

Pour expliquer ce fait, ainsi que d'autres faits connus, l'auteur émet une nouvelle hypothèse de travail, suivant laquelle la coacervation implique nécessairement la formation de liaisons, soit du type Van der Waals, soit des ponts d'hydrogène, voire même des liaisons chimiques.

Au moment où les charges électriques sont de sens contraires, elles facilitent aussi la coacervation, en contribuant par des liaisons du type ionique à la formation du complexe, sans toutefois avoir un rôle fondamental dans la coacervation, ainsi qu'on l'estimait jusqu'ici.

C'est sous cet angle que la coacervation des protéines sériques dénaturées par la chaleur a été étudiée. La faculté de coacervation de certaines fractions est modifiée lorsqu'elles ont été chauffées pendant un certain temps, relativement bref, et à une température peu élevée. Ceci est dû, probablement, à la mise en évidence de certains groupements chimiques par le développement des molécules protéiques, ce qui modifie également la faculté de coacervation, par le mécanisme que l'auteur vient d'indiquer.

Les opérations chimiques de purification des différentes fractions modifient également la faculté de coacervation. Pour cette raison, les recherches de cet ordre devront porter sur le sérum intégral.

EXPLICATION DE LA FIGURE

Fig. 1. — L'electrophorèse des protéines du serum dénaturé par la chaleur (30 minutes à 60°C).

a — avant formation du coacervat ; *b* — le liquide surnageant demeuré après centrifugation du coacervat.

BIBLIOGRAFIE

1. A. DOBRY, *Sur la coacervation.* Bull. Soc. Chim. Biol., *22*, 75 (1940).
2. H. G. BUNGENBERG DE JONG, W. A. L. DEKKER, ONG SIAN GWAN, *Zur Kenntnis der Komplexkoazervation. III, Mitt. Komplex-koazervate unter physiologischen Milieubedingungen.* Biochem. Z., **221**, 392 (1930).
3. H. G. BUNGENBERG DE JONG, ONG SIAN GWAN, *Zur Kenntnis der Komplex-koazervation. II. Mitt. Serumalbumin + Gummiarabicum.* Biochem, Z., **221**, 182 (1930).
4. А. И. ОПАРИН, М. С. БАРДИНСКАЯ, С. С. МЕЛИК-СЕРКИСЯН, К. Б. СЕРЕБРОВСКАЯ, *Некоторые данные о комплексообразовании в системе сывороточный альбумин-гуммиарабик*, ДАН СССР, **108**, *6*, 1125 (1960).
5. H. YAMANE, *The interaction of nucleic acid and serum albumin.* C.A., 14846 i (1955).
6. H. YAMANE, *The interaction of nucleic acid and ovalbumin.* C.A., 14847 a (1955).
7. D. MOTET-GRIGORAS, *Participarea fracțiunilor proteice din serul sangvin uman normal la formarea coacervatului cu gumă arabică.* Studii și cercetări de biochimie **II**, *2*, 181 (1959).
8. L. M. DZIALOSZYNSKI, *IV-ter Internationale Kongress für Biochemie.* Wien, secț. 17—13, 199 (1958).
9. D. MOTET-GRIGORAS, *Contribuții la metoda de cercetare a coacervării proteinelor din serul sangvin uman cu gumă arabică.* Studii și cercetări de biochimie, **III**, *3*, 303 (1960).
10. S. M. IDU, S. CÎMPEANU, *Electroforeza.* Ed. medicală, București, 1957, 57.
11. Г. В. ТРОИЦКИЙ, В. И. ОКУЛОВ, *Исследование „электрофоретической гомогенизации" белков.* Биохимия, **23**, *4*, 601 (1958).
12. E. MACOVSCHI, M. CĂRSTEANU, *Coacervatul dintre proteinele serului sangvin uman și gumă arabică.* Studii și cercetări de biochimie, **II**, *2*, 111 (1959).

ACȚIUNEA BENZEDRINEI ȘI MEDINALULUI ASUPRA ACTIVITĂȚII UNOR ENZIME DIN ȚESUTURILE ANIMALE

DE

S. VASU, MIOARA CÂRSTEANU și CORINA SARMANIOTI

Prin folosirea benzedrinei ca excitant și a medinalului ca inhibant al sistemului nervos s-a putut evidenția modificarea metabolismului unor componente, respectiv a activității unor enzime din creier. Astfel, A. V. Palladin [1], [2] a dovedit că excitația este însoțită de consumul substanțelor energetice (glucide, ATP, fosfocreatină etc.), iar inhibarea de intensificarea refacerii acestora. De asemenea, E. Martinson, L. Tiahepold, H. Hansen, G. Gurianova și L. Hange [3], urmărind efectul somnului prelungit, provocat cu medinal, asupra unor componente din creier, au găsit în primele 4 zile o creștere a cantității de glicogen și ATP, precum și o scădere a acidului lactic și piruvic, iar în zilele următoare o inversare a acestor modificări. E. Macovschi, C. Șelariu, S. Mihăescu și S. Vasu [4] arată că activitatea fosfatazelor acidă și alcalină, a unor formațiuni corpusculare intracelulare din creier este mărită la șobolanii injectați cu benzedrină și luminal etc.

Medinalul sau unele substanțe cu acțiune similară pot modifica și biochimismul altor țesuturi. Astfel, M. Mauri [5], urmărind intoxicarea acută cu fenobarbital, la șobolani, a arătat că activitatea ATP-azică din mușchi, inimă, ficat, rinichi și creier este inhibată complet la doze de 0,2 g, iar la doze mai mici activitatea descrește. L. A. Țeitlin [6] a dovedit că medinalul, în doze moderate, provoacă creșterea cantității de glicogen și fosfocreatină, precum și o scădere simultană a acidului lactic din inimă și ficat, în timp ce doze mari determină modificări opuse celor arătate. K. I. Straciţki și L. A. Țeitlin [7], urmărind *in vitro* influența medinalului asupra fosforilării oxidative din omogenatele de ficat, au arătat că gradul de inhibiție a acesteia depinde de cantitatea de medinal folosită.

Dat fiind că benzedrina și medinalul provoacă modificări ale activității unor enzime din creier, iar medinalul acționează asupra unor compo-

nente din ficat, ni s-a părut interesant de cercetat activitatea unor enzime atît din creier cît şi din ficat, rinichi şi muşchi sub acţiunea benzedrinei şi medinalului, administrate în dozele care provoacă excitaţia şi inhibiţia sistemului nervos central.

În principiu, experienţele au fost făcute astfel : se injecta şobolanilor benzedrină sau medinal, animalele erau sacrificate apoi la intervale de timp diferite ce depindeau de substanţa folosită, iar pe omogenatele de creier, ficat, rinichi şi muşchi (tricepsural) se determina activitatea ATP-azei, fosfatazelor acidă şi alcalină, precum şi proteoliza autolitică. Rezultatele erau comparate cu acelea obţinute pe animale netratate.

S-au folosit 39 şobolani de 100—140 g, dintre care 14 martori, 13 injectaţi cu benzedrină şi 12 injectaţi cu medinal. Dozele utilizate au fost la fel cu cele folosite de A. V. Palladin [1] pentru a obţine stări de excitaţie şi inhibiţie. Se injecta subcutan cîte 1 mg benzedrină (1 ml soluţie) la 100 g greutate corporală, făcînd sacrificarea după 45 min, sau cîte 45 mg (1 ml soluţie) la 100 g greutate corporală în 24 ore, timp de 4 zile.

Şobolanii erau sacrificaţi prin decapitare. Se luau apoi cît mai repede posibil creierul, ficatul, rinichiul şi muşchiul tricepsural, se omogenizau în omogenizatorul Potter, cu apă rece, iar omogenatele obţinute se diluau pentru a se ajunge la o concentraţie finală de 1%.

Activitatea ATP-azei s-a urmărit după metoda propusă de K. P. Du Bois şi V. R. Potter [8], lucrînd la pH-ul optim al enzimei (pH 9,1) şi folosind ca activator $MgCl_2$. Nu s-a folosit şi $CaCl_2$ ca activator (cum indică autorii metodei), deoarece făcîndu-se probe în paralel cu $MgCl_2$, $CaCl_2$ şi $MgCl_2 + CaCl_2$ s-au obţinut rezultate mai bune în primul caz.

Fosforul anorganic eliberat din ATP s-a determinat după metoda A. Bodansky [9], întrebuinţîndu-se fotocolorimetrul „F.E.K.-M" 1951. Rezultatele sînt exprimate în mg P anorganic eliberat de 1 mg ţesut proaspăt în 15 min, la 37°C (unităţi ATP-azice) şi sînt redate în tabelă.

Determinarea activităţii fosfatazelor s-a făcut pentru cea alcalină după metoda A. Bodansky [9], iar pentru cea acidă după indicaţiile lui F. Klemperer [10]. P anorganic eliberat din β-glicerofosfatul de sodiu sub acţiunea fosfatazelor acidă (pH 4,6) şi alcalină (pH 8,6) s-a determinat după metoda A. Bodansky [9], folosind acelaşi colorimetru fotoelectric. Rezultatele sînt exprimate în mg P anorganic eliberat de 10 mg ţesut proaspăt în 60 min la 37°C şi sînt cuprinse în tabelă.

Determinarea proteolizei autolitice s-a făcut după indicaţiile date de M. P. Meşkova şi S. E. Severin [11]. Azotul aminic s-a determinat după metoda Van Slyke, iar azotul rezidual după metoda Parnas-Wagner. Rezultatele sînt calculate în mg azot aminic şi rezidual pentru 0,5 g ţesut proaspăt şi sînt redate în tabelă.

Din analiza datelor obţinute, prelucrate prin metoda calculului statistic, reiese că activitatea ATP-azică din ţesuturile cercetate scade faţă de martor, în cazul administrării medinalului, scăderea fiind foarte semnificativă pentru creier, ficat şi rinichi şi nesemnificativă pentru

Tabela

Activitatea ATP-azică, fosfatazelor (alcalină) şi acidă) şi proteoliza autolitică din creier, ficat, rinichi şi muşchi de şobolani injectaţi cu benzedrină (1 mg/100 g greutate corporală), martori şi injectaţi cu medinal (45 mg/100 g greutate corporală în 24 ore timp de 4 zile). Rezultatele sînt exprimate pentru ţesutul proaspăt, activitatea fiind urmărită la 37° C

Determinarea	Şobolani	Nr. determinărilor	Creier		Ficat		Rinichi		Muşchi	
			Media aritmetică	Diferenţa faţă de medie	Media aritmetică	Diferenţa faţă de medie	Media aritmetică	Diferenţa faţă de medie	Media aritmetică	Diferenţa faţă de medie
ATP-aza (mg P/1 mg ţesut)	benzedrină	8	10,5	+1,1	19,3	+1,1	21,3	+2,9*	18,9	−1,8
	normal	8	9,4	—	18,2	—	18,4	—	20,7	—
	medinal	7	4,7	−4,7***	13,1	−5,1**	13,6	−4,8***	19,2	−1,5
Fosfataza alcalină (mg P/10 mg ţesut)	benzedrină	8	12,2	−0,5	10,3	−2,2	346,7	+35,4	1,8	−0,6
	normal	8	12,7	—	12,5	—	311,3	—	2,4	—
	medinal	7	13,4	+0,7	7,5	−5,0**	285,9	−25,4	1,9	−0,5
Fosfataza acidă (mg P/10 mg ţesut)	benzedrină	8	13,2	−3,4***	98,7	−26,2	121,4	+ 0,3	2,0	+0,5
	normal	8	16,6	—	124,9	—	121,1	—	1,5	—
	medinal	7	16,6	0	79,9	−45,0*	129,6	+7,5	2,4	+0,9
Azot aminic (mg N/500 mg ţesut)	benzedrină	5	0,418	+0,024	3,343	+0,604	4,252	−0,681	0,278	+0,001
	normal	6	0,394	—	2,739	—	4,833	—	0,277	—
	medinal	5	0,293	−0,101	2,454	−0,285	4,514	−0,319	0,280	+0,003
Azot rezidual (mg N/500 mg ţesut)	benzedrină	5	0,779	−0,082	5,526	+1,083*	7,987	+0,872	0,829	+0,328
	normal	6	0,861	—	4,443	—	7,115	—	0,501	—
	medinal	5	0,650	−0,211	4,495	+0,058	6,427	−0,688	0,834	+0,333

Diferenţele semnificative:

şobolani injectaţi cu benzedrină: pt. ATP-ază (rinichi) 2,34 (P = 0,05)
pt. fosfataza acidă (creier) 3,22 (P = 0,001)
pt. azot rezidual (ficat) 0,971(P = 0,05)

şobolani injectaţi cu medinal: pt. ATP-ază (creier) 4,61 (P = 0,001)
(ficat) 3,79 (P = 0,01)
(rinichi) 4,47 (P = 0,001)
pt. fosfataza alcalină (ficat) 4,92 (P = 0,01)
pt. fosfataza acidă (ficat) 43,87(P = 0,05)

muşchi, iar în cazul administrării de benzedrină se remarcă doar o creştere semnificativă a ei în rinichi.

Aceste rezultate se aseamănă cu cele obţinute de M. Mauri [5] după care în intoxicarea acută cu fenobarbital (doze de 0,2 g) activitatea ATP-azică din muşchi, inimă ficat, rinichi şi creier este inhibată. Datele noastre arată în plus că o administrare treptată a medinalului, în doze mici, timp de 4 zile, conduce final tot la o scădere a activităţii ATP-azice din creier, ficat şi rinichi, în schimb nu o modifică pe aceea din muşchi.

Micşorarea activităţii ATP-azice din creier la şobolanii injectaţi cu medinal poate fi pusă în legătură cu datele indicate de A. V. Palladin [1], [2], E. Martinson, L. Tiahepold, H. Hansen, G. Gurianova şi L. Hange [3], după care în timpul somnului narcotic (provocat cu medinal) cantitatea de ATP din creier creşte. Rezultatele noastre indică o scădere a activităţii ATP-azice în acest caz şi deci, o scădere a consumului de ATP.

Este posibil ca un proces similar, respectiv de creştere a ATP, să se petreacă de asemenea în ficat şi rinichi, în timpul somnului, deoarece activitatea ATP-azei scade şi în aceste organe. În acest sens vorbesc şi experienţele făcute de K. I. Straciţki şi L. A. Ţeitlin [7] care, urmărind *in vitro* fosforilarea oxidativă din omogenatele de ficat, arată că transferul grupelor fosfat de la ATP la glucoză, sau la fructoz — 6 — fosfat, este afectat de către medinal.

În timpul excitaţiei provocate de benzedrină, activitatea ATP-azei în rinichi creşte semnificativ; probabil datorită unor necesităţi energetice mai mari, rinichiul metabolizează o cantitate mai mare de ATP.

Activitatea fosfatazei acide scade foarte semnificativ în creierul animalelor injectate cu benzedrină şi semnificativ în ficat, în cazul administrării de medinal. Referindu-ne la fosfataza alcalină, se observă o scădere foarte semnificativă a activităţii ei în ficatul şobolanilor injectaţi cu medinal. În rest, rezultatele nu se schimbă semnificativ.

E. Macovschi, C. Şelariu, S. Mihăescu şi S. Vasu [4] au arătat că activitatea fosfatazelor acidă şi alcalină a unor formaţiuni corpusculare intracelulare din creier creşte atît în excitaţia provocată cu benzedrină cît şi în inhibiţia provocată cu luminal sodic. Este posibil ca diferenţa faţă de rezultatele noastre, obţinute pe omogenat total, să fie doar aparentă, deoarece după W. C. Schneider [12], în cazul cercetării repartizării unor enzime pe formaţiunile intracelulare, însumarea activităţii enzimatice a diferitelor formaţiuni adesea nu este egală cu activitatea omogenatului total, ci poate fi mai mare sau mai mică, în funcţie de activatorii sau inhibitorii enzimelor care întovărăşesc sau nu fracţiunile obţinute.

Determinarea cantităţii de azot aminic şi rezidual, ce caracterizează intensitatea proceselor de autoliză, arată că descompunerea după moarte a proteinelor din ficat şi rinichi este în general mai mare decît în muşchi şi creier.

Proteoliza autolitică este intensificată la nivelul ficatului în cazul şobolanilor injectaţi cu benzedrină, conducînd la o creştere semnificativă

a azotului rezidual. Celelalte rezultate nu indică modificări semnificative.

În concluzie, se constată că administrarea benzedrinei și medinalului, în dozele care provoacă excitația și inhibiția sistemului nervos la șobolan, conduce la modificarea activității unor enzime, respectiv a metabolismului diferitelor componente atît în creier cît și în alte țesuturi, cum ar fi ficatul și rinichii. Este posibil că aceste modificări se realizează pe calea unei influențe directe, exercitată de substanțele folosite asupra activității enzimelor, în acest caz intervenind ca factor indirect permeabilitatea țesuturilor pentru aceste substanțe, dar nu este exclus să intervină și influența trofică a sistemului nervos asupra diferitelor țesuturi ale organismului care, după I. P. Pavlov [13], reglează chimismul vital al țesuturilor.

Prezentată la redacție la 20 ianuarie 1961

Institutul de biochimie
al Academiei R.P.R., București

ДЕЙСТВИЕ БЕНЗЕДРИНА И МЕДИНАЛА НА АКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ ЭНЗИМОВ ТКАНИ ЖИВОТНЫХ

РЕЗЮМЕ

Исходя из предположения, что бензедрин и мединал, вводимые в дозах, вызывающих возбуждение и торможение нервной системы, могут изменять активность некоторых энзимов мозга, печени, почек и мышц, авторы проследили за АТФ-ной активностью кислой и щелочной фосфатаз, а также за автолитическим протеолизом в указанных тканях.

Введение бензедрина крысам привело к значительному повышению АТФ-ной активности в почках и к снижению активности кислой фосфатазы мозга. Введение мединала вызвало значительные снижения АТФ-ной активности в мозгу, печени и почках; подобное явление имело место в случае кислой и щелочной фосфатаз печени.

Автолитический протеолиз, прослеженный авторами путем определения аминового и остаточного азота, не проявил значительных изменений кроме как в печени крыс, которым вводили бензедрин, когда замечалось повышение количества остаточного азота.

Возможно, что указанные изменения происходят в результате прямого воздействия, оказываемого используемыми веществами на активность энзимов, но не исключено, что в данном случае играет роль трофическое влияние нервной системы, регулирующей жизненный химизм тканей.

ACTION DE LA BENZÉDRINE ET DU MÉDINAL SUR L'ACTIVITÉ DE CERTAINS ENZYMES DES TISSUS ANIMAUX

RÉSUMÉ

Partant de l'hypothèse que la benzédrine et le médinal, administrés à des doses qui provoquent l'excitation et l'inhibition du système nerveux, pourraient modifier l'activité de certains enzymes du cerveau aussi bien que du foie, des reins et des muscles, les auteurs ont suivi l'activité de l'adénosintriphosphatase, des phosphatases acide et alcaline, ainsi que la protéolyse autolytique des tissus mentionnés.

La benzédrine détermine chez les rats une intensification concluante de l'activité adénosintriphosphatasique des reins et une baisse de l'activité de la phosphatase acide du cerveau. L'administration de médinal entraîne des baisses significatives de l'activité adénosintriphosphatasique du cerveau, du foie et des reins, ainsi que de l'activité des phosphatases acide et alcaline du foie.

La protéolyse autolytique, contrôlée par des déterminations de l'azote aminique et résiduel, n'a accusé de modifications significatives que dans le foie des rats traités à la benzédrine, chez lesquels on constate une hausse du taux de l'azote résiduel.

Il est possible que ces modifications soit dues à une influence directe, exercée sur l'activité des enzymes par les substances utilisées, mais il n'est pas exclu que l'influence trophique du système nerveux, qui règle le chimisme vital des tissus, y intervienne également.

BIBLIOGRAFIE

1. А. В. Палладин, *Об обмене веществ в головном мозге при торможении и возбуждении высшей нервной деятельности.* Биохимия, **17**, *4*. 456 (1952).
2. А. В. Палладин, *Биохимия головного мозга.* Природа, *8*, 15 (1954).
3. Е. Е. Мартинсон, Л. Я. Тяхеполд, Х. М. Хансен, Г. Г. Гурянова, Л. А. Ханге, *Изменение углеводного обмена, дыхания и синтеза аденозинтрифосфата в мозгу при длительном торможении медикаментозным сном и влияние аскорбиновой кислоты.* Вопросы мед. химии, **2**, *6*, 443 (1956).
4. E. Macovschi, C. Şelariu, S. Mihăescu, S. Vasu, *Activitatea fosfatazică, colinesterazică şi citocromoxidazică a formaţiunilor intracelulare din creier de şobolan în diferite stări funcţionale.* Studii şi cercetări de biochimie, **1**, *1*, 9 (1958).
5. M. Mauri, *ATP-ase activity in acute experimental poisoning with barbiturate (phenobarbital).* C.A., 1474 c (1957).
6. Л. А. Цейтлин, *Углеводно-фосфорный обмен в сердце и в печени кроликов при медикаментозном сне.* Вопросы мед. химии, **2** *5* 363 (1956)
7. К. И. Страчицкий, Л. А. Цейтлин, *Влияние хлоралгидрата и мединала на окислительное фосфорилирование в клетках тканей печени морских свинок.* Вопросы мед. химии, **2**, *2*, 83 (1956).
8. K. P. Du Bois, V. R. Potter, *The assay of animal tissues for respiratory enzymes. III. Adenosintriphosphatase.* J. Biol. Chem., **150**, *1*, 185 (1943).

9. A. BODANSKY, *Determination of serum inorganic phosphate and of serum phosphatase.* Amer. J. Clin. Path. (Technical supplement), **1**, *1*, 1 (1937).
10. F. KLEMPERER, J. MILLER, *The inhibition of alkaline phosphatase by Beryllium.* J. Biol. Chem., **180**, *1*, 281 (1949).
11. Н. П. МЕШКОВА, С. Л. СЕВЕРИН, *Практикум по биохимии животных.* Советская наука, Москва, 5 (1950).
12. W. C. SCHNEIDER, *Manometric techniques and tissue metabolism.* Ed. W. W. Umbreit, R.H. Buris, I. F. Stauffer, Burgess Publishing Co., Minneapolis, cap. XII, 148 (1951).
13. I. P. PAVLOV, *Despre inervația trofică.* An. rom.-sov. (med.), *15—16*, 157 (1950).

I. PROBLEME GENERALE. METODE DE CERCETARE

806. VELICAN C., *Histochimia mucopolizaharidelor şi importanţa ei clinică.* Studii şi cercet. med. int., 1960, **I**, *4*, 407—419.
Referat general cu 13 indicaţii bibliografice.

C. Iordache

807. GEIB R., *Diureticele moderne.* Studii şi cercet. med. int., 1960, **I**, *5*, 523—528.
Referat general cu 11 indicaţii bibliografice.

C. Iordache

808. IONESCU C., GACIU F., ARIEŞAN V., PAVEL T. şi DEUTSCH E., *Contribuţii la obţinerea membranelor ultrafiltrante necesare în procesul de preparare a reticulinei.* Farmacia, 1960, *4*, 321—322.

Se indică o metodă pentru obţinerea membranelor ultrafiltrante, folosind film de nitroceluloză pe suport de pînză batist. Membranele astfel obţinute au fost satisfăcătoare în procesele tehnologice de preparare a reticulinei injectabile.

S. Vasu

809. GHEORGHIU A., CONSTANTINESCU A. şi IONESCU-MATIU E., *Contribuţii la identificarea unor forme farmaceutice obţinute din planta* **Atropa belladona** *4., prin metoda electroforetică.* Farmacia, 1960, *4*, 337—342.

Autorii stabilesc o tehnică de electroforeză pe hîrtie, care a condus la separarea alcaloizilor şi a unor substanţe vizibile în lumina ultravioletă, permiţînd identificarea formelor farmaceutice obţinute din *Atropa belladona 4.*

S. Vasu

810. GEIB R., *Explorarea funcțională a scheletului și a metabolismului calciului.* Viața med., 1960, **VII**, *5*, 397—412.
Referat general cu 9 indicații bibliografice.

D. Moțet-Grigoraș

811. AFANASIEV P. V., *Despre contradicțiile metabolismului în natura vie.* An. rom.-sov., med. gen., 1960, *5*, 13—17.

Autorul arată conținutul concret al caracterului contradictoriu al metabolismului în natura vie și încearcă, pe această bază, să scoată în evidență principalele forțe motrice ale dezvoltării sistemelor vii.

D. Moțet-Grigoraș

II. BIOCHIMIA PROTIDELOR.
III. BIOCHIMIA GLUCIDELOR.
IV. BIOCHIMIA LIPIDELOR.
V. ENZIME

812. ZAMFIRESCU-GHEORGHIU M., POPESCU I., DOBREANU-ENESCU V., VELICAN D., CARP C., *Cercetări asupra unor enzime energetice miocardice în cursul determinării hepatitei cronice toxice experimentale.* Studii și cercet. med. int., 1960, **I**, *5*, 577—586.

În cursul intoxicării unui lot de 33 de iepuri cu tetraclorură de carbon, oleu fosforat și galben de unt, pentru obținerea hepatitei toxice cronice, s-au produs unele modificări enzimatice, miocardice, energetice; scade intensitatea reacțiilor histochimice ale succindehidrazei miocardice, se observă tulburări în repartiția citocromoxidazei. Nu se constată modificări semnificative ale aldolazei miocardice. Animalele au prezentat și un dezechilibru proteic: scăderea fracțiunii albuminice și a hipergamaglobulinemiei. De asemenea, s-au înregistrat tulburări ECG nespecifice.

C. Iordache

VI. VITAMINE, HORMONI ȘI ALȚI COMPUȘI BIOACTIVI

813. PORA E. A. și TOMA V. V., *Rolul timusului în repartiția $P^{32}O_4H_2Na$ la șobolanii albi.* Com. Acad. R.P.R., 1960, **X**, *3*, 243—247.

Folosindu-se fosfat marcat cu P^{32}, s-a văzut că îndepărtarea timusului la șobolani influențează repartiția acestei substanțe în diferite organe și, indirect, metabolismul. Mușchii animalelor timectomizate nu pot reține fosfații. Ei se elimină masiv prin urină.

I. Tănase

814. MILCU ŞT.-M., VAISLER L., ANTONESCU N. şi COSTINER E., *Acţiunea protectoare a vitaminei B_{12} asupra capacităţii de inactivare a tiroxinei de către ficatul lezat.* Com. Acad. R.P.R., 1960, **X**, *3*, 249—252.

Vitamina B_{12} ameliorează capacitatea ficatului lezat de a inactiva tiroxina.

I. Tănase

815. DINISCHIOTU G. T., PILAT L., NESTORESCU B., RĂDULESCU I. C., MUICĂ N., LILLIS R., CRĂCIUN O. şi GUGUIANU S., *Tratamentul silicozei acute cu hormoni corticoizi. (Rezultate după 3 ani de tratament).* Studii şi cercet. med. int., 1960, **I**, *5*, 535—549.

Prin tratamentul bolnavilor cu cortizon, deltacortizon sau deltafluorhidrocortizon, s-a putut obţine o oprire a evoluţiei cronice a silicozei, cu menţinerea unei stări generale şi funcţionale respiratorii superioară celei de la începutul tratamentului. Bolnavii care au prezentat la început disproteinemii marcate (creşterea gamaglobulinelor şi scăderea albuminelor) au avut în cursul tratamentului o evidentă tendinţă spre euproteinemie.Creşte de asemenea azotul aminic sangvin şi urinar, precum şi silicemia.

C. Iordache

816. DICK J. şi RUSU-BODREANU S., *Contribuţii la studiul metodelor de extracţie şi de dozare a provitaminei A în vegetale.* Studii şi cercet. chim., Timişoara, 1960, **VII**, *1—2*, 61—67.

Îndepărtarea clorofilei şi pigmenţilor însoţitori, care constituie o sursă de erori la extracţia carotenei cu Na_2SO_4, se obţine prin înlocuirea acestuia cu alaun uscat (*alumen ustum*) şi feldspat. Pentru dozarea colorimetrică în serie a carotenei, se propune folosirea — ca soluţie etalon — a unui amestec de roşu de metil şi p-dimetilamino-azobenzen.

N. Luţă-Moldoveanu

817. GONDOŞ-GROMICOV M., MAXIM V., BEJAN GH., CALOTOIU A., *Cercetări asupra conţinutului în caroten al nutreţurilor verzi şi însilozate.* Lucr. şt. I.C.Z., 1959, **XVII**, 33—46.

S-a determinat prin metoda Popandopulo conţinutul la nutreţuri verzi — leguminoase, graminee, frunze de floarea-soarelui în diferite faze de vegetaţie, rădăcinoase şi bostănoase — precum şi la un număr de 15 nutreţuri însilozate. Fazele tînără de îmbobocire şi de început de înflorire la leguminoase, cît şi fazele tînără şi de burduf la graminee, sînt faze optime sub raportul conţinutului în caroten. Conţinutul în caroten al nutreţurilor însilozate, funcţie de valoarea iniţială în caroten a masei verzi, a înregistrat, în cazul porumbului şi lucernei conservate 4 luni, pierderi între 31,8%—38,50%.

H. Filipescu

VII. BIOCHIMIA MICROBILOR. VIRUSURI. BACTERIOFAGI. ANTIBIOTICE. IMUNOCHIMIE

818. GAVRILESCU M., *Un aspect al patogenității parazitului* **Trichomonas vaginalis.** Dermatovener., 1960, **V**, *4*, 343—348.

Folosind culturi pure de *Trichomonas vaginalis* în cercetări de laborator, autorul constată la acești paraziți proprietăți litice față de proteine animale. Această constatare e pusă în legătură cu leziunile erozive ale aparatului genital în tricomonază.

H. D. Schell

819. UNTERMAN H. și ZINGER-SCHWARTZ S., *Influența unor ioni metalici asupra stabilității soluțiilor apoase de penicilină și streptomicină.* Farmacia, 1960, *4*, 309—312.

Se urmărește inactivarea soluțiilor apoase de penicilină G și sulfat de streptomicină sub influența unor ioni metalici (Co, Mn, Cu, Ni, Hg, Cd, Zn, Pb). Inactivarea este mai marcantă la penicilină decît la streptomicină.

S. Vasu

820. POPESCU A., *Eficacitatea unor formule de mediu nutritiv pentru cultura țesuturilor embrionare de găină pe suport plasmatic.* Lucr. șt. Inst. „S. V. Pasteur", 1960, **IV**, 205—213.

Studiul a 16 formule de lichide nutritive a arătat că pentru proliferarea fibroblaștilor de găină este necesar extract embrionar 10% și ser de viței 5%. Eficacitatea optimă a prezentat-o mediul constituit din: ser de viței 5%, extract embrionar 10%, lichid amniotic 30%, soluție Hanke 55%.

D. Tănăsescu

821. KISGYÖRGY Z., DOMOKOS L., FÜZI J. și ADÁM L., *Contribuții la cunoașterea acțiunii bacteriostatice a extractului de fructe de măceș* **(Rumex crispus L).** Rev. medic. Tg.-Mureș, 1960, **VI**, *1*, 82—85.

Extractul de fructe de măceș are o acțiune bacteriostatică asupra dezvoltării tulpinei *Shigella dysenteriae*; această acțiune este mai mare în cazul tulpinilor cultivate cîțiva ani în laborator, decît în cazul tulpinilor proaspete. Pe această cale se confirmă utilizarea măceșului în combaterea diareelor.

S. Vasu

VIII. BIOCHIMIE VEGETALĂ

822. PÎNTEA C., PLEŞA D. şi POPESCU I., *Influenţa borului asupra compoziţiei chimice a boabelor de porumb.* Studii şi cercet. Iaşi, biol. agric., 1959, X, *1*, 181—189.

Borul favorizează în raport cu modul de aplicare, sinteza şi acumularea glucidelor şi grăsimilor în boabele de porumb. La tratarea seminţelor înainte de semănat şi la stropitul plantelor înainte de înflorit se constată o creştere a glucidelor, în timp ce la aplicarea tratamentului combinat se constată o scădere a glucidelor şi o creştere a proteinelor. La boabele la care cantitatea de amidon este crescută se constată scăderea proteinelor, pentogenilor şi celulozei şi invers, la cele cu amidon scăzut se constată creşterea cantităţii de proteine, pentogeni şi celuloză.

A. Batcu

823. JURAVEL M. S., MILOVANOVA L. V. şi FROLOV A. I., *Influenţa giberellinei asupra dezvoltării boabelor de struguri.* An. rom.-sov., agr.-zoot., 1960, XXIV, *5* (57), 95—100.

Se arată că prin stropiri cu soluţii de giberelină în diferite concentraţii, s-au obţinut, la soiurile fără seminţe, boabe de struguri mai mari şi cu compoziţia chimică modificată. S-au determinat : subst. uscată, glucoza, fructoza, substanţe pectice, aciditatea, subst. tanante şi colorante, precum şi acizii organici (aceştia din urmă numai calitativ, cromatografic). O dată cu creşterea concentraţiei giberelinei, se micşorează conţinutul în glucoză (nu şi fructoză) şi se măreşte conţinutul în acizi şi mat. pectice.

C. Săndulescu

824. SIMIONESCU C., *Considerations on some results obtained in the study of vegetable cancer.* Bul. Inst. politehnic Iaşi, serie nouă, 1958, IV (VIII), *3—4*, 203—216.

În unele tumori vegetale scade procentul de celuloză şi creşte cel de lignină, indiferent de specia arborelui, în funcţie însă de forma şi natura tumorii. Suma lignină + celuloză rămîne constantă, de unde concluzia că procesul de lignificare se face pe seama celulozei degradate. Sînt schematizate etapele mari ale procesului de lignificare şi se prezintă modificările chimico-morfologice din tumori pe baza analizelor chimice şi a examenului microscopic în ultraviolet.

A. Batcu

IX. BIOCHIMIE ANIMALĂ

825. CHERA GH., LEPORDA GH., SAINT-PIERRE C., GHIŢESCU C. şi SUHAR Z., *Influenţa tulburării activităţii nervoase superioare experimentale asupra echilibrului glicemic la clinii parţial depancreatizaţi.* Studii şi cercet. Iaşi med., 1958, IX, *2*, 221—254.

Depancreatizarea parţială a uşurat apariţia tulburărilor provocate prin dereglarea activităţii nervoase superioare, accentuînd în mod trecător predominenţa factorilor hiperglicemianţi şi scăderea toleranţei la glucide. Dezechilibrul glicemic s-a manifestat în anumite cazuri prin apariţia unei hipoglicemii în timpul probei de toleranţe la glucide. Experienţele făcute pentru a modifica excitabilitatea scoarţei cerebrale prin administrarea de fenamină au dat rezultate neregulate. Agravarea dereglărilor echilibrului glicemic sub influenţa şocurilor nevrozante a fost pasageră. Nu s-a obţinut o stare diabetică durabilă.

A. Batcu

826. FLORESCU ŞT., *Consideraţii asupra vitezei de absorbţie şi eliminare a P^{32} administrat intravenos şi per os la oaie cu fistula rumenului.* Lucr. şt. I.C.Z., 1959, XVII, 395—405.

Activitatea maximă a P^{32} introdus intravenos, se descoperă în sînge în primul minut, în rumen după 2 ore, în urină după 3 ore, iar în fecale după 24—48 ore de la administrare. Mersul este mai lent în cazul administrării P^{32} per os : concentraţia maximă în sînge apare la 4 ore, în rumen după 2 ore, în urină după 24 ore şi în fecale după 24 ore.

H. Filipescu

827. POPESCU FR. şi TACU A., *Indicii hematologici şi fiziologici la metişii G_1 dintre rasele ardeneză şi trăpaşe, comparativ cu rasele parentale.* Lucr. şt. I.C.Z., 1959, XVII, 433—448.

Studiul indicilor hematologici şi fiziologici la metişii raselor ardeneză şi trăpaşe a dus la concluzia că sînt diferenţe mai mari între grupele de metişi, decît între acestea şi rasele parentale. Conţinutul în calciu, fosfor, sodiu, potasiu, cloruri şi colesterol din serul sangvin a prezentat diferenţe nete între animalele de reproducţie aparţinînd celor două rase parentale şi metişii acestora.

H. Filipescu

828. SZABÓ I., LÁSZLÓ J. şi MÓDY J., *Producţia de anticorpi în silicoză.* Rev. medic. Tg.-Mureş, 1959, V, *3*, 302—304.

Administrînd o singură dată praf de cuarţ sau SiO_2 amorf, la iepuri, se constată o creştere a producerii de anticorpi (hemolizine). Tratamentul îndelungat cu acid silicic cauzează scă-

derea anticorpilor tifici şi paratifici. În general, substanţele silicoase intensifică iniţial mecanismele defensive ale organismului, pentru ca ulterior să ducă la epuizarea lor.

S. Vasu

829. FESZT T., ALMASI ZS., KELEMEN A. şi FESZT GY., *Influenţa hidrazidei acidului izonicotinic asupra involuţiei spontane a guşei experimentale.* Rev. medic. Tg-Mureş, 1960, VI, *1*, 62—65.

Se cercetează influenţa administrării prelungite a hidrazidei acidului izonicotinic (HIN) asupra involuţiei spontane a guşei experimentale a şobolanilor albi supuşi în prealabil unui tratament concomitent cu metiltiouracil şi HIN. Se constată că administrînd HIN, guşa dezvoltată se menţine şi după întreruperea tratamentului cu metiltiouracil, deşi HIN singură nu produce decît o uşoară creştere în greutate şi activitate a tiroidei. Dacă funcţia tiroidei este modificată pe cale medicamentoasă, efectul produs de HIN este mai evident.

S. Vasu

830. WIENER F. şi BABONITS M., *Corelaţii topochimice în ţesutul de granulaţie şi epiteliul din plăgile cutanate la şobolanii albi. Fosfataza alcalină şi acidul ribonucleic.* Rev. medic. Tg-Mureş, 1960, VI, *1*, 76—79.

În procesul de vindecare a rănilor, provocate şobolanilor albi, este o corelaţie strînsă între repartizarea, localizarea şi cantitatea de ARN şi activitatea fosfatazei alcaline. Această corelaţie ar putea servi ca test de apreciere a dinamicii de vindecare a plăgilor.

S. Vasu

831. RÁCZ G., FÜZI I. şi KISGYÖRGY Z., *Suspendarea fertilităţii animalelor de experienţă tratate cu frunze de păr.* Rev. medic. Tg.-Mureş, 1960, VI, *1*, 80—82.

Frunzele de păr adăugate raţiei alimentare a şobolanilor de sex feminin conduc la suspendarea ciclului sexual şi a fecundităţii. Această acţiune se observă după prima lună de administrare a unei doze zilnice de 5 g frunze proaspete pentru 100 g greutate corporală. Nu sînt semnalate simptome de intoxicaţie a şobolanilor.

S. Vasu

832. VINOGRADSKI A. B., *Influenţa cortizonului asupra dezvoltării aterosclerozei experimentale, lipemiei şi eliminării 17-cetosteroizilor la oameni.* An. rom.-sov., med. gen., 1960, *3*, 120—130.

În cursul corticoterapiei, colesterinemia şi lecitinemia cresc, dar în aşa fel încît raportul lecitină/colesterină creşte şi el pînă la normal. Dat fiind că lecitina din sînge este considerată ca un factor care împiedică depunerea colesterinei în pereţii vasculari, autorul consideră că tratamentul cu cortizon nu determină dezvoltarea sau intensificarea aterosclerozei. Din contră, ateroscleroza experimentală a fost încetinită după administrare de cortizon. Nici ACTH şi nici cortizonul nu se pot utiliza la om, din cauza acţiunii lor secundare.

D. Moţel-Grigoraş

X. BIOCHIMIE MEDICALĂ

833. NIŢESCU I., MIHĂIŢĂ M. şi CONSTANTINESCU A., *Electroforeza pe hîrtie în limfogranulomatoza inghinală subacută (boala Nicolas Favre).* Studii şi cercet. fiziol., 1960, V, *3*, 473—475.

Urmărind la 9 cazuri de limfogranulomatoză inghinală benignă modificările cantitative ale fracţiunilor proteice din serul sangvin, cu ajutorul electroforezei pe hîrtie, autorii constată că în timp ce în perioada de incubaţie nu apar modificări evidente ale fracţiunilor proteice din serul sangvin, în perioada de debut are loc o scădere uşoară a albuminelor, însoţită de o creştere a γ-globulinelor. În perioada de stare, această scădere a albuminelor este masivă şi însoţită de asemenea de o creştere a γ-globulinelor.

H. D. Schell

834. VELICAN C., GROZEA P., VELICAN D. şi SIGHETEA E., *Histochimia complexelor gluco-proteice în hemopatiile maligne. I. Cercetări în limfogranulomul malign.* Studii şi cercet. med. int., 1960 I, *3*, 345—354.

S-a pus în evidenţă predominanţa mucopolizaharidelor de tipul acidului hialuronic în stadiul de proliferare limforeticulară, predominanţa substanţelor muco- şi glicoproteice cu conţinut bogat în tirozină în stadiul de proliferare granulomatoasă şi o predominanţă a mucopolizaharidelor nesulfatate, de alt tip decît acidul hialuronic, în stadiul de proliferare sarcomatoasă.

C. Iordache

835. PĂUŞESCU E., ROMAN E. şi SARAGEA M., *Cercetări asupra mecanismelor de acţiune ale sărurilor biliare. Acţiunea sărurilor biliare asupra receptorilor intestinali în icterul prin colostază.* Studii şi cercet. med. int., 1960, I, *3*, 355—366.

În cursul icterului colostatic, excitabilitatea interoceptorilor intestinali creşte considerabil, datorită sărurilor biliare.

C. Iordache

836. STOICHIȚĂ M., GROZEA P., ȚEICAN-GHEORGHIU M. și SIGHETEA E., *Modificările coagulării la bolnavii cu hemopatii maligne.* Studii și cercet. med. int., 1960, I, *4*, 433—442.

Din punctul de vedere al coagulării există o mare deosebire între leucoze și reticulozele maligne. Apar modificări cantitative și mai ales calitative ale fibrinogenului.

C. Iordache

837. VELICAN D., RUNCAN V. și ȘUȚIANU ST., *Observații histochimice preliminare asupra țesutului conjunctiv în hepatita cronică, în legătură cu evoluția clinică a bolii.* Studii și cercet. med. int., 1960, I, *4*, 443—449.

Determinările histochimice ale glucidelor și complexelor glucoproteice, lipidelor, acizilor nucleici și enzimelor în hepatita cronică au arătat că se produc modificări interesante la mucopolizaharide și la glicoproteine. De asemenea, este semnificativă capacitatea de sulfatare a rețelei de reticulină.

C. Iordache

838. SCHĂCHTER A., BERCU L., MAXIMILIAN V., ROȘCA L. și DIMITRIU C. GH., *Modificări hematologice în cancerul gastric.* Studii și cercet. med. int., 1960, I, *4*, 451—464.

Cercetările efectuate pe 162 de bolnavi au arătat că o trăsătură caracteristică a cancerului gastric este anemia feriprivă.

C. Iordache

839. VLĂDESCU R., BĂLĂNESCU I. V. și GEORGESCU C., *Teste fizico-chimice (floculație și microsedimentare) în tuberculoza pulmonară.* Studii și cercet. med. int., 1960, I, *4*, 465—471.

Testele cele mai concludente pentru evoluția tuberculozei pulmonare sînt proteinogramele și flocularea cu sulfat de cadmiu.

C. Iordache

840. STOICA GH., SOLOMON O. F., ȚEICAN-GHEORGHIU M. și CIOBANU V., *Studii asupra factorului reumatoid din poliartrita cronică evolutivă. II. Titrarea factorului reumatoid cu latex de copolimer stiren-acrilonitril.* Studii și cercet. med. int., 1960, I, *4*, 485—494.

Se descrie o metodă de titrare a factorului reumatoid cu latex de copolimer stiren-acrilonitril şi γ-globulină umană normală. Se arată caracterele fizico-chimice ale latexului preparat de unul din autori. Rezultatele obţinute sînt egale şi chiar superioare celor obţinute în străinătate.

C. Iordache

841. VELICAN C., GROZEA P., VELICAN D. şi SIGHETEA E., *Biologia procesului de scleroză. I. Cercetări asupra ganglionilor limfatici în limfogranulomul malign.* Studii şi cercet. med. int., 1960, **I**, *5*, 524—558.

S-a urmărit histochimic, rolul complexelor gluco-proteice, al unor proteine, lipide, vitamine şi enzime, în producerea fibrozelor viscerale de variate etiologii. S-a constatat că acumulările intraganglionare de glucoproteine constituie o fază care precede dezvoltarea procesului de scleroză.

C. Iordache

842. CINCA I. şi BONA C., *Consideraţii asupra patogeniei sindromului neuro-anemic din anemia Addison-Biermer.* Neurol. psih., 1960, **V**, *3*, 203—216.

S-au studiat (prin cromatografie) modificările aminoacizilor din sînge şi din lichidul cefalorahidian la 11 bolnavi, din care 7 prezentau sindromul neuro-anemic. S-a constatat absenţa fenilalaninei şi serinei (aminoacizi care intră în structura mielinei). Carenţa de vitamină B_{12} în anemie conduce la o sinteză deficitară care, final, determină profunde modificări chimice, avînd ca rezultat demielinizarea.

N. Luţă-Moldoveanu

843. GAVRILESCU S. şi MICLĂUŞ V., *Modificări hidroelectrolitice în cursul unor afecţiuni neurologice şi neurochirurgicale.* Neurol. psih., 1960, **V**, *3*, 217—228.

Tulburările observate se pot grupa în : sindromul hipernatriemic, cu hipertonie osmotică şi mărirea concentraţiei electroliţilor sangvini ; sindromul hiponatriemic, cu reducerea remarcabilă a concentraţiei principalilor electroliţi plasmatici şi hipotonie osmotică ; sindromul complex, rezultat din asocierea celor două categorii de dezechilibru menţionate, sau complicate cu alte tulburări metabolice (diabet zaharat). Se ilustrează prin observaţii clinice, diferite aspecte ale acestor tulburări şi se arată mecanismul lor de producere.

N. Luţă-Moldoveanu

844. ALEXANDRESCU M. M., RĂDULESCU F. şi BĂDESCU M., *Importanţa determinării mucoproteinelor serice în stările tumorale ale aparatului genital.* Obstetr., ginecol., 1960, *4*, 311—318.

Se urmăresc şi se indică modificările faţă de normal ale mucoproteinelor serice în 102 cazuri de tumori ale aparatului genital feminin.

S. Vasu

845. SCURTU N., FILIPESCU I., MITROI O. şi SUFRIN V., *Aldolaza serică ca test de diagnostic al hepatitei epidemice la gravide, lehuze şi ginecopate.* Obstetr., ginecol., 1960, *4*, 321—331.

Se constată o concordanţă a acestui test cu evoluţia clinică a bolii şi o pozitivitate precoce faţă de alte probe de laborator folosite.

S. Vasu

846. GHIMICESCU GH. şi KAPRI A., *Contribuţii la studiul histidinuriei normale şi patologice.* Rev. medico-chirurgicală Iaşi, 1959, LXIII, *3*, 683—686.

Reacţia histidinei în urină este pozitivă la subiecţii de sex masculin în vîrste superioare a 15 ani şi negativă sub această vîrstă. La sexul feminin reacţia este negativă, indiferent de vîrstă, şi pozitivă numai în timpul sarcinii. Autorii explică aceasta prin cantitatea de gonadotrofine care este mult mai accentuată la bărbat şi care la femeie se accentuează în timpul sarcinii.

A. Balcu

847. PUSKAS GY., METZ O. şi MODY J., *Observaţiile noastre în legătură cu stabilirea activităţii procesului reumatic prin teste biologice.* Rev. medic. Tg.-Mureş, 1960, VI, *2*, 149—152.

Se compară rezultatele obţinute prin determinarea VSH, α-2-glucoproteidelor, glucoproteidelor totale şi electroforegramele proteinelor serice. În special ultimele 3 teste pot să fie de un real ajutor în dirijarea mai sigură a tratamentului în cursul procesului reumatic.

S. Vasu

CRONICA BIOCHIMIEI LA IAȘI

1. CONSTITUIREA CERCULUI DE BIOCHIMIE

Manifestările activității biochimice în centrul universitar Iași s-au desfășurat în cadrul secțiilor Societății științelor medicale. Biochimiștii din Iași nu aveau o formă organizatorică pentru activitatea lor. La 14 martie 1960 a avut loc în amfiteatrul Laboratorului de biochimie al Institutului medico-farmaceutic Iași, constituirea Cercului biochimiștilor, sub auspiciile Societății de medici și naturaliști Iași, filială a Societății științelor medicale din R.P.R.

În cuvîntul de deschidere tov. prof. dr. M. Sibi a arătat necesitatea ca toți biochimiștii din Iași să fie grupați într-un cerc în care să aibă ocazia de a face un larg schimb de experiență între ei asupra problemelor actuale ale biochimiei practice și teoretice și urează spor la muncă în cadrul noii forme organizatorice.

Tov. dr. C. Negoiță a adus salutul prezidiului Societății științelor medicale Iași și a arătat sarcinile ce stau în fața cercului de biochimie, care grupează pe toți chimiștii, biologii și medicii care lucrează în laboratoarele de biochimie clinică la spitalele și clinicile din Iași.

Apoi s-a trecut la înscrierea biochimiștilor în Societatea științelor medicale și la alegerea comitetului de conducere. Ca președinte al Cercului biochimiștilor din Iași a fost ales tov. Alex. Batcu, ajutat de un birou format din trei membri. În birou au fost alese : tov. M. Drăgan, C. Mărculescu și M. Trandafirescu.

Ședința s-a încheiat cu prezentarea referatului tov. Alex. Batcu și F. Șerban: *Importanța și metodele dozării bilirubinemiei.*

2. ACTIVITATEA CERCULUI DE BIOCHIMIE ÎN 1960

Ședința din 31 martie (împreună cu Secția de fiziologie)

1. J. Nițulescu, *Stadiul actual al cercetărilor privind acțiunea antianemică a vitaminei* B_{12} (referat general).
2. Alex. Batcu, Aspazia Busuioc, *Contribuții la studiul formelor de fosfor din sînge.* Urmărindu-se modificările formelor sub care se găsesc compușii fosforați ai hematiilor în timpul conservării sîngelui, am constatat că în decurs de 15 zile, la +5°C, se petrec aceleași modificări ca și atunci cînd hematiile sînt ținute timp de 24 ore la +38°C. În ambele

cazuri se constată creşterea fosforului anorganic, în special pe seama fosforului uşor hidrolizabil şi a fosforului acidului fosfopiruvic, în timp ce fosforul proteic şi lipoidic rămîne neschimbat.

Şedinţa din 17 iunie

1. Alex. Batcu, *Unele sarcini ale biochimiei în lumina directivelor Congresului al III-lea al Partidului Muncitoresc Romîn.*
2. Margareta Drăgan, *Valoarea cercetării activităţii aldolazice în clinică* (referat general).
3. Alex. Batcu şi Aspazia Busuioc, *Influenţa vitaminelor asupra dinamicii compuşilor fosforaţi ai hematiilor.*
   Lucrarea se publică în numărul de faţă al revistei.

Şedinţa din 11 noiembrie

1. Carolina Faighelis, *Despre activitatea transaminazică* (referat general).

2. Cristina Mărculescu, Florin Şerban, Alexandra Gheorghiu, *Contribuţii la determinarea acidului p. aminohipuric (PAH) în explorarea funcţiei renale.*

   Se porneşte de la metoda Deutsch şi Schaden , căreia i se aduc unele modificări : recoltarea sîngelui se face pe fluorură de sodiu.Plasma se defecă cu acid tricloracetic 20%, iar la filtrat se adaugă dintr-o soluţie de nitrit de sodiu 0,1% pentru diazotare. Acidul tricloracetic fiind un acid slab, prezintă avantajul de a permite diazotarea la temperatura camerei, dar necesită o concentrare mai mare de alfa-naftilamină.

   Sulfamatul de amoniu a fost preparat în laborator dintr-o cantitate determinată de hidroxid de amoniu, la care s-a adăugat acid sulfamic pînă la reacţie neutră. Amestecul se încălzeşte pe baie de apă pînă la dispariţia urmelor de amoniac. Soluţia este evaporată pe baia de apă, pînă ce prin răcire depune cristale caracteristice. Modificările aduse măresc sensibilitatea reacţiei.

3. Margareta Drăgan, *Despre acizii nonulozaminici* (notă informativă).

Şedinţa din 28 decembrie (împreună cu Secţia de fiziologie)

1. I. Hăulică, *Din preocupările actuale ale fiziologilor şi biochimiştilor sovietici* (note de călătorie).

3. SUSŢINERI DE LUCRĂRI DE DISERTAŢIE

Gh. Topală, *Contribuţii la studiul fiziologiei splinei (participarea splinei la metabolismul colesterolului)*, susţinută în iunie 1960, Universitatea „Al. I. Cuza", Iaşi.

Alex. Batcu, *Contribuţii la studiul acţiunii oxido-reducătoare a vitaminelor şi la dinamica proceselor de fosforilare*, susţinută în septembrie 1960. Institutul de medicină, Iaşi.

4. CENTENARUL UNIVERSITĂŢII „AL. I. CUZA" DIN IAŞI

Cu ocazia sesiunii ştiinţifice jubiliare a Universităţii „Al. I. Cuza", din Iaşi, s-au prezentat următoarele lucrări de biochimie :

E. Văşcăuţeanu, V. Jurca, V. Artenie, Cercetări asupra proprietăţilor unor compuşi organici cu acţiune la plante.

C. Pîntea, Contribuţiuni la studiul rolului biologic al microelementelor.

E. Budeanu, Studiul influenţei derivaţilor hidrazidei izonicotinice asupra fermenţilor din sucurile digestive.

Z. Covăsneanu, M. Sucmanschi, A. Piriianu, Modificările activităţii colinesterazice din ţesuturi sub influenţa benzedrinei.

E. Macovschi, C. Iordache, C. Dragomirescu, Fosfagenul şi activitatea musculară.

E. Văşcăuţeanu, El. Bogdan, M. Motaş, O. Vicol, Studiul compuşilor acidului nicotinic cu acidul fosforic şi al rolului lor în biochimie.

Cr. Simionescu, E. Calistru, N. Simionescu, Studiul unor transformări chimice în timpul dezvoltării tumorilor produse de *Bacterium tumefaciens*.

E. Văşcăuţeanu, V. Jurca, M. Apavaloaie, Studiul variaţiei concentraţiei fosforului în sînge la crapii din iazurile din Moldova (în legătură cu condiţiile de hrană).

V. Răşcanu, C. Rotaru, D. Dorogan, C. Solomon, M. Kapri, Modificările funcţionale în efort şi oboseală la om : metabolism energetic, excitabilitate neuro-musculară, curenţii bioelectrici musculari şi fracţiunile seroprotidice electroforetice.

Eugen A. Pora, Carol Wittenberger, Florica Stoicovici, Repartiţia ^{32}P în diferiţi muşchi analogi şi homologi în seria vertebratelor.

L. Leahu, Cs. Hadnagy, A. Eperjessy, Fr. Gyergyay, Acţiunea acidului beta-indolacetic (AIA) asupra celulei animale.

I. Niţulescu, Gh. Chera, A. Sneer, C. Haler, Variaţiile echilibrului glicemic la iepuri, provocate prin administrarea de morfină. Caracteristica reflexelor condiţionate glicemice asociate.

D. Dorogan, C. Rotaru, Rolul formaţiei reticulate în excitabilitatea cronaxică şi în conţinutul în albumine hidrosolubile ale muşchilor antagonişti.

I. Boişteanu, A. Boişteanu, Observaţii asupra evoluţiei metabolismului icrelor de păstrăv indigen şi lipan în cursul perioadei de incubaţie.

M. Jitaru, G. Dimitriu, Procesul hemostazic la Crustacei.

C. Strat, Gh. Rusu, Gh. Creteanu, Gh. Mardare, M. Drăgan, N. Popescu, I. Lungu, Valoarea unor teste enzimologice în diagnosticul şi pronosticul hepatopatiilor.

I. Kasza, L. Bukaresti, Cs. Hadnagy, I. Csiki, Analiza polarografică a serului: o nouă metodă pentru diferenţierea icterelor hepatocelulare şi mecanice.

Gh. Ghimicescu, C. Musteaţă, O nouă metodă pentru determinarea valorii calorice a alimentelor şi raţiilor alimentare.

Gh. Tudoranu, Elena Baran, Traian Baran, Cornelia Popescu, Observaţii asupra proteinogramelor în unele hemopatii.

O. Franche, I. Niculescu, A. Gheorghiu, C. Mărculescu, Valoarea calciuriei ca test funcţional renal.

I. Manta, Cercetări experimentale asupra aterosclerozei.

P. Vancea, V. Batcu, Alex. Batcu, D. Cernătescu, Contribuţiuni la studiul dinamicii proceselor de fosforilare în cataractă.

ŞEDINŢELE CERCULUI DE BIOCHIMIE GENERALĂ ŞI APLICATĂ AL INSTITUTULUI DE BIOCHIMIE AL ACADEMIEI R.P.R. ŞI CATEDREI DE BIOCHIMIE DE LA UNIVERSITATEA „C. I. PARHON"

— În ziua de 11.XI.1960 a avut loc la Institutul de biochimie şedinţa prezidată de acad. prof. E. Macovschi, cu următoarea ordine de zi:

1. S. Butucelea (Colectivul de pedologie al Academiei R.P.R.), *Din problemele biochimiei solului.*

Se arată pe de-o parte concentraţiile mai vechi geologic-eluviale ale formării şi evoluţiei solului, care considerau că acesta ar fi o rocă afînată, rezultată din procese de degradare şi alterare, însoţite continuu de levigarea produselor solubile ale alterării, iar pe de altă parte concepţiile mai noi bio-geochimice şi bio-acumulative ale procesului de solificare. Se arată că solul nu este numai un corp organo-mineral polidispers, structurat şi rînduit în orizonturi, cum se credea pînă nu de mult, ci un adevărat mediu de viaţă, a cărui formare şi evoluţie are loc sub acţiunea complexă a formaţiei vegetale şi a microorganismelor.

Procesul de solificare ducînd la formarea de humus în cantităţi şi de naturi diferite, se arată în continuare, formarea şi compoziţia calitativă a acestui component fundamental al solului, cu unele consideraţii asupra structurii lui.

2. I. Brad (I.C.A.R.), *Aspecte biochimice şi fiziologice ale rezistenţei la ger a plantelor.*

Lucrarea prezintă o trecere în revistă a unora dintre cele mai semnificative rezultate obţinute în diferite ţări şi la noi, în cercetările asupra proceselor metabolice la temperaturi scăzute, pozitive şi negative.

S-au făcut studii comparative între specii şi soiuri de plante rezistente şi nerezistente, între plante sănătoase şi bolnave, între variante agrotehnice în care s-au întrebuinţat îngrăşăminte fosfatice, potasice şi azotate sau tratamente cu microelemente şi substanţe cu acţiune fiziologică puternică.

S-a ajuns la concluzia că metabolismul general este afectat în sensul creşterii raportului hidroliză/sinteză şi al favorizării proceselor anoxibiotice faţă de cele oxibiotice. Intensitatea proceselor catabolice este de asemenea scăzută, echilibrul acido-bazic este deplasat în sensul alcalozei, predominînd acumularea glucidelor şi lipidelor, cu scăderea procentuală a protidelor.

Orientarea metabolismului, în sensul măririi rezistenţei la ger, se poate realiza prin combaterea agenţilor patogeni, evitarea stimulenţilor respiraţiei, între care şi azotatul de amoniu, utilizarea îngrăşămintelor fosfatice şi potasice, a microelementelor sub formă de combinaţii chelatice, precum şi a unor inhibitori ai proceselor respiratorii.

Cercetările Secţiei de biochimie şi fiziologie din I.C.A.R. sînt orientate în acest sens.

— În ziua de 20.XII.1960 a avut loc la Facultatea de chimie şedinţa prezidată de prof. dr. Al. Ionescu-Matiu, cu următoarea ordine de zi:

1. M. Şerban (Institutul de biochimie al Academiei R.P.R.), *Comportarea proteinelor cerebrale acvosolubile în procesul de salifiere şi desalifiere.*

Lucrarea a fost publicată în nr. 1 din 1961 al revistei.

2. L. Popa (Centrul de cercetări biologice al Academiei R.P.R.), *Date noi asupra acizilor nucleici prezentate la prima conferinţă despre acizii nucleici, ţinută la Moscova.*

Întrucît consfătuirea de la Moscova din decembrie 1959 asupra acizilor nucleici a cuprins un material foarte vast (57 referate generale şi comunicări), prezentarea în cadrul unui singur referat a tuturor problemelor discutate şi comunicate ar fi devenit mult prea schematică. Referentul s-a mărginit de aceea la discutarea a două probleme fundamentale legate de acizii nucleici, şi anume : legătura dintre acizii nucleici şi biosinteza proteinelor, şi rolul acizilor nucleici în transmiterea caracterelor ereditare.

În privinţa corelaţiei dintre acizii nucleici şi biosinteza proteinelor s-au arătat unele ipoteze referitoare la această legătură, menţionîndu-se că ea se realizează atît la nivelul unor matriţe macromoleculare, cît şi la nivelul micromolecular, prin metabolism. S-a prezentat de asemenea, o ipoteză a mecanismului biochimic al sintezei proteinelor, cu participarea acizilor nucleici.

Posibilitatea transformărilor ereditare cu ajutorul acidului desoxiribonucleic a devenit un fapt unanim recunoscut. Se pune întrebarea dacă acest lucru este posibil şi la organismele policelulare. O lucrare pozitivă în acest sens este aceea a cercetătorilor francezi Benoit şi colaboratori. Încercările de a reproduce experienţele lui Benoit nu au dus însă la rezultate. Astfel, Svoboda şi Haskova, Cepinova au lucrat pe aceleaşi rase de raţe şi nu au obţinut modificări ereditare. Tot negative au fost rezultatele experienţelor comunicate de Kok, Gherşenson, Samoş, lucrînd pe şoareci, şobolani şi viermi de mătase.

În legătură cu această problemă importantă, s-a subliniat că mecanismul transmiterii caracterelor ereditare este mai complicat decît s-a crezut la un moment dat şi că este necesar să se acorde pe viitor o atenţie deosebită acestor cercetări.

— În ziua de 10.II.1961, a avut loc la Facultatea de ştiinţe naturale şedinţa prezidată de prof. dr. Al. Ionescu-Matiu, cu următoarea ordine de zi:

1. I. Voicu (Facultatea de ştiinţe naturale), *Din biochimia acidului boric.*

Prin proprietatea pe care o are acidul ortoboric de a se combina cu unele grupări funcţionale şi în primul rînd cu gruparea oxidril prezentă în polialcool şi glucide, se pot explica anumite constatări sau se pot întrevedea unele acţiuni de ordin biochimic ale acidului boric. Acest acid conferă un caracter pronunţat acid combinaţiilor în care se angajează.

Acidul ortoboric se combină şi cu acidul piruvic care este „substanţa cheie" în unele importante degradări fermentative ale glucidelor. Sînt de prevăzut sau sînt chiar cunoscute: 1 — modificări în ce priveşte oxidabilitatea sau degradarea unor glucide, în sensul că molecula acestora devine mai rezistentă în mediul cu acid boric. 2 — Modificări în mersul hidrolizei chimice a unor glucide superioare în mediul cu acid boric. 3 — Modificarea mersului unor acţiuni enzimatice datorită: a) schimbării de reacţie prin formarea (sau dispariţia) unor compuşi organo-borici cu caracter acid; b) combinării acidului boric cu o grupare funcţională a părţii specifice a enzimei, sau a părţii proteice a acesteia. 4 — Împiedicarea intrării într-un complex a unei enzime prin combinarea acidului boric cu aceasta, precum şi, din acelaşi motiv, scoaterea unei enzime dintr-un complex. 5 — Perturbări în funcţionarea protoplasmei datorită blocării unor grupări funcţionale. 6 — Perturbări în activitatea unor vitamine şi 7 — influenţări ale acţiunii unor virusuri.

Autorul a dovedit şi studiat combinarea acidului boric cu ureaza, precum şi cu unele enzime din humus active în fixarea azotului elementar de către *Azotobacter chreococum.* În acest caz, cantităţi foarte mici de acid boric au produs foarte mari diminuări în cantitatea de azot fixat.

ŞEDINŢELE CERCULUI DE BIOCHIMIE MEDICALĂ AL SOCIETĂŢII ŞTIINŢELOR MEDICALE ŞI INSTITUTULUI DE BIOCHIMIE AL ACADEMIEI R.P.R.

— În ziua de 14.XII.1960 a avut loc în amfiteatrul Spitalului Colţea, şedinţa prezidată de acad. prof. E. Macovschi, cu următoarea ordine de zi:

1. G. Turcu (Clinica 1 Pediatrie „Emilia Irsa"), *Date noi în legătură cu metabolismul normal şi patolcgic al bilirubinei.*

Datele noi asupra bilirubinei s-au referit la : structura chimică, proprietăţile fizico-chimice, forma de vehiculare în sînge şi metabolismul normal şi patologic. Din punct de vedere al structurii chimice, se admite astăzi că bilirubina există sub două forme : bilirubina indirectă şi bilirubina directă. Lucrările lui Billing, Lathe şi Cole (Anglia), Schmid (S.U.A.) şi Talafand (R. S. Cehoslovacă) au demonstrat că bilirubina directă este bilirubina mono- sau diglucuronoconjugată, iar bilirubina indirectă este acid bilirubinic ca atare. Conjugarea are loc sub acţiunea unei enzime, glucuroniltransferaza, existentă în microzomii celulei hepatice.

Faptul că cele două tipuri de bilirubină sînt entităţi chimice distincte, se reflectă şi în proprietăţile lor fizico-chimice.

În ceea ce priveşte forma de vehiculare a bilirubinei în sînge, lucrările lui Burillon din 1952 au demonstrat că singura proteină vector a bilirubinei este serumalbumina. După concepţia veche, bilirubina legată de serum albumină era bilirubina directă, iar cea legată de globină era bilirubina indirectă.

Datele noi referitoare la pigmenţii biliari au determinat o interpretare nouă a metabolismului normal şi patologic al bilirubinei în lumina teoriilor enzimatice moderne şi la nivelul metodelor actuale de determinare cantitativă şi calitativă. Cea mai nouă clasificare a icterelor este următoarea : ictere prin deficit de glucuroniltransferază ; ictere cu supraproducţie de bilirubină datorită hemolizei ; ictere cu hiperproducţie de bilirubină de origine nehemolitică (în această ultimă categorie intră icterele în care bilirubina provine nu din hemul hemoglobinei hematiilor sîngelui circulant, ci din hemul hematiilor din măduvă sau chiar de la porfirină). Se mai numesc de aceea şi ictere prin scurtcircuit.

2. A. Bandrovski (Institutul oncologic), *Date asupra metabolismului mineral în cancer.*

Sînt trecute în revistă modificările în cancer, a celor mai importanţi electroliţi ai organismului. Spre deosebire de cei sănătoşi, la canceroşi se observă o creştere a potasiului la 35% din numărul bolnavilor studiaţi ; această creştere merge paralel cu evoluţia bolii şi cu stadiul în care se găsesc bolnavii. Valorile sodiului sînt mai puţin semnificative, ele variind în funcţie de fenomenele secundare supraadăugate (oedemul sau ascita). Calciul scade, indiferent de localizare, accentuîndu-se la bolnavii în caşexie. Fosforul seric prezintă variaţiuni nesemnificative, iar valorile magneziului sînt în majoritatea cazurilor crescute. Fierul este în general scăzut, mai ales în cazurile cu anemii accentuate sau cele cu pierderi cronice de sînge. Cuprul, zincul şi manganul, ca activatori ai diferitelor enzime, au variaţii deosebite. În concluzie, deşi rezultatele obţinute în studierea electroliţilor în cancer, nu sînt specifice, cercetarea lor este utilă pentru a aduce o contribuţie în pronosticul stadiilor avansate ale acestei boli sau pentru a corecta printr-o terapeutică adecvată manifestările ei fiziopatologice.

3. P. Georgescu (Institutul de ftiziologie), *Metabolismul şi rolul biologic al zincului*

Descoperirea faptului că zincul face parte din compoziţia unor enzime indispensabile respiraţiei celulare, metabolismului intern, a demonstrat că acest metal joacă un rol metabolic cel puţin tot atît de important ca şi alte oligoelemente mai bine cunoscute, cum sînt fierul şi cuprul. Enzimele care conţin zinc, cunoscute. pînă astăzi, sînt : anhidraza carbonică, alcooldehidrogenaza, acid glutamic dehidrogenaza şi lactic dehidraza.

În afară de aceste metal-enzime în care zincul este un constituent specific, el intervine foarte probabil şi în alte reacţii enzimatice, ca activator al acestora.

Nivelul zincului seric scade în anemia pernicioasă, anemie cu hematii, falciforme, infarctul miocardic, ciroza hepatică, precum și în cursul unor infecții : pneumonie, bronșită, erizipel, pielonefrită etc.

— În ziua de 28.XII.1960 a avut loc în amfiteatrul Institutului „Babeș", ședința prezidată de prof. dr. Al. Ionescu-Matiu, cu următoarea ordine de zi :

1. S. Oeriu, I. Tănase, *Biochimia în biologia vîrstelor. Rolul cisteinei și al vitaminelor* B_6, B_{16} *și a acidului folic în metabolizarea aminoacizilor în funcție de vîrstă.*

2. S. Oeriu, I. Tănase, *Biochimia în biologia vîrstelor. Rolul aminoacizilor în mecanismul biochimic al proceselor de îmbătrînire la om.*

Ambele lucrări se publică în numărul următor al revistei.

3. S. Oeriu, M. Oancea, St. Balliu, *Biochimia în biologia vîrstelor. Vitamina* B_{12} *și acizii folic și pantotenic în funcție de vîrsta animalului și sub acțiunea cisteinei și a unor vitamine cu rol de metilare și de metabolizare a sulfului.*

Lucrarea se publică în numărul de față al revistei.

4. S. Oeriu, C. Russu, I. Cruceanu, *Vitaminele PP,* B_1, B_2, și B_6 *în funcție de vîrsta animalului și sub acțiunea cisteinei și a unor vitamine cu rol de metilare și de metabolizare a sulfului.*

Lucrarea se publică în numărul de față al revistei.

5. S. Oeriu, O. Teodorescu, M. Tigheciu, *Studiul activității respiratorii și dehidrazice la* Mycobacterium tuberculosis H. Ratti *sub acțiunea unor substanțe cu acțiune antituberculoasă.*

Lucrarea se publică în numărul de față al revistei.

MŰSZAKI 1883

LUCRĂRI APĂRUTE ÎN EDITURA ACADEMIEI R.P.R.

în anul 1960

CHIMIE

J. HEYROVSKI, J. KŮTA, **Tratat de polarografie**, 327 p., 14,10 lei.

C. D. NENIȚESCU, I. P. CANTUNIARI, I. G. DINULESCU, **Nomenclatura chimiei anorganice**, 93 p., 3,65 lei.

IONEL HAIDUC, **Introducere în chimia elementelor anorganice**, 339 p., 16 lei.

FIZICĂ

ZOLTAN GÁBOS, **Bazele fizicii moderne. Termodinamica fenomenologică**, 319 p., 13,10 lei.

EDMOND NICOLAU, **Propagarea undelor electromagnetice, vol. I. Proprietățile generale ale undelor electromagnetice**, 312 p., 13 lei.

FR. JOLIOT-CURIE, **Opere alese**, 302 p. + 8 pl., 27,40 lei.

L. DOBRESCU, **Tehnica reactoarelor nucleare**, 549 p. + 9 pl., 28,40 lei.

Din

STUDII ŞI CERCETĂRI DE BIOCHIMIE

au apărut:

anul I, 1958, 4 n-re (a 5 lei);
anul II, 1959, 4 n-re (a 5 lei);
anul III, 1960, 4 n-re (a 5 lei);
anul IV, 1961, 1 nr. (a 5 lei).

Numerele curente se găsesc de vînzare la

LIBRĂRIA ACADEMIEI R.P.R.

Bucureşti, Calea Victoriei nr. 27, sau la orice librărie din ţară.

Se pot comanda şi prin poştă la secţiile „Cartea prin poştă" de pe lîngă Librăria Academiei R.P.R., librăriile principale din reşedinţele de regiune, sau la Librăria republicană

CARTEA PRIN POŞTĂ

Bucureşti, Str. Biserica Enei nr. 16, raionul I. V. Stalin

Abonamentele se fac la oficiile poştale, prin factorii poştali şi difuzorii voluntari din întreprinderi şi instituţii.

Pentru străinătate, cererile de numere izolate sau de abonamente se fac prin întreprinderea de stat pentru comerţ exterior „Cartimex" I.S.C.E., str. Aristide Briand nr. 14, sau Căsuţa poştală 134—135, Bucureşti.

T. P. 2 c. 1234

Lei 5.—

F 1330

KAT

ACADEMIA REPUBLICII POPULARE ROMÎNE
INSTITUTUL DE BIOCHIMIE

4
ANUL IV
1961

studii şi cercetări de biochimie

EDITURA ACADEMIEI REPUBLICII POPULARE ROMÎNE

F 1330

ACADEMIA REPUBLICII POPULARE ROMÎNE
INSTITUTUL DE BIOCHIMIE

MŰSZAKI KÖNYVTÁR-ORSZÁGOS 1883

STUDII ŞI CERCETĂRI DE BIOCHIMIE

4

ANUL IV

1961

EDITURA ACADEMIEI REPUBLICII POPULARE ROMÎNE

COMITETUL DE REDACȚIE

ACADEMICIAN E. MACOVSCHI, *redactor responsabil*; ACADEMICIAN R. VLĂDESCU; D. ISĂCESCU, membru corespondent al Academiei R.P.R.; S. OERIU, membru corespondent al Academiei R.P.R.; E. SORU, membru corespondent al Academiei R.P.R.; M. MEZINCESCU; H. SLUȘANSCHI, *redactor adjunct*; I. VASILESCU; V. ALEXANDRESCU, *secretar tehnic de redacție.*

REVISTA STUDII ȘI CERCETĂRI DE BIOCHIMIE

APARE DE 4 ORI PE AN

Redacția: BUCUREȘTI, str. Popovici nr. 20
Telefon 18.43.55—17.79.63

ACADEMIA REPUBLICII POPULARE ROMÎNE
INSTITUTUL DE BIOCHIMIE

STUDII ŞI CERCETĂRI DE BIOCHIMIE

Tomul IV, nr. 4 1961

SUMAR

Pag.

E. MACOVSCHI, V. FRUNZETI şi L. BOTOŞĂNEANU, Factorii fizico-chimici şi metabolici în transportul diferitelor soluţii în plante 427

EUGENIA SORU, MARIA ISTRATI, JUDITH SZABADOS, DINU TĂNĂSESCU şi MARIA PARASCHIVESCU, Contribuţii la studiul enzimologic al apariţiei fenomenului de rezistenţă bacteriană la antibiotice. I. Ciclul acizilor tricarboxilici la *Mycobacterium tuberculosis* BCG şi variantele corespunzătoare rezistente la streptomicină, PAS şi hidrazida acidului izonicotinic 449

L. M. BURUIANĂ, EL. HADARAG, A. DEMA şi I. DEMA, Acţiunea unui flux radiant complex asupra fosfomonoesterazei eritrocitare 463

L. M. BURUIANĂ, V. PAVLU, I. DEMA, C. DIACONESCU şi A. DEMA, Cercetări polarografice şi electroforetice privind efectul unui flux de neutroni asupra soluţiilor de proteine serice 473

M. V. IONESCU, N. N. SĂULESCU, M. IVĂNESCU şi M. BÎRSAN, Unele caractere biochimice ale porumbului şiştăvit 485

N. MISON-CRIGHEL şi ELISABETA CONSTANTINESCU, Constante biochimice în sîngele eferent cerebral, splenic, hepatic şi renal, la cîine . . . 491

C. MARCU, V. STROESCU şi RITTA SCHWARTZ, Acţiunea imipraminei asupra activităţii glucozo-dehidrogenazei şi a citocromului c din omogenatul de creier de şobolan 499

HORST D. SCHELL, Interacţiunea unor substanţe curarizante fluorescente cu proteinele serice 505

S. VASU, Comportarea coacervatelor proteino-pectice în prezenţa poligalacturonazei 517

C. HULUŢĂ, CORINA IORDACHE, H. D. SCHELL, O. CONSTANTINESCU şi V. BENEA, Răsărirea seminţelor şi metabolismul puieţilor de *Fraxinus excelsior L.* rezultaţi din seminţe tratate cu soluţii radioactive de ^{32}P 527

A. MARX, Analiza cromatografică pe răşini schimbătoare de ioni a aminoacizilor din α-anatoxina stafilococică purificată 537

EUG. PĂUNESCU, Acţiunea hidrazidei acidului izonicotinic asupra activităţii reducătoare a celulei bacteriene 543

C. GURBAN şi ELENA CRISTEA, Observaţii asupra cîtului de fosforilare în mitocondriile din ficatul de şobolan în sistemul oxidativ al succinatului 551

RECENZII 559

CRONICA BIOCHIMIEI DIN R.P.R. 597

DIN ISTORIA BIOCHIMIEI ÎN R.P.R. 599

INDEX ALFABETIC 605

EDITURA ACADEMIEI REPUBLICII POPULARE ROMÎNE

ACADÉMIE DE LA RÉPUBLIQUE POPULAIRE ROUMAINE
INSTITUT DE BIOCHIMIE

ÉTUDES ET RECHERCHES DE BIOCHIMIE

Tome IV, nº 4 1961

SOMMAIRE

Page

E. MACOVSCHI, V. FRUNZETI et L. BOTOŞĂNEANU, Facteurs physico-chimiques et métaboliques du transport des solutions dans les plantes 427

EUGENIA SORU, MARIA ISTRATI, JUDITH SZABADOS, DINU TĂNĂSESCU et MARIA PARASCHIVESCU, Contribution à l'étude enzymologique de l'apparition du phénomène de résistance bactérienne aux antibiotiques. I. Le cycle des acides tricarboxyliques chez *Mycobacterium tuberculosis* BCG et chez ses variantes résistantes à la streptomycine, au PAS et à l'hydrazide de l'acide isonicotinique 449

L. M. BURUIANĂ, EL. HADARAG, A. DEMA et I. DEMA, Action d'un flux irradiant complexe sur la phospho-monoestérase érythrocytaire 463

L. M. BURUIANĂ, V. PAVLU, I. DEMA, C. DIACONESCU et A. DEMA, Recherches polarographiques et électrophorétiques concernant l'effet d'un flux de neutrons sur les solutions de protéines sériques 473

M. V. IONESCU, N. N. SĂULESCU, M. IVĂNESCU et M. BÎRSAN, Certains caractères biochimiques du maïs échaudé 485

N. MISON-CRIGHEL et ELISABETA CONSTANTINESCU, Constantes biochimiques du sang efférent cérébral, splénique, hépatique et rénal, chez le chien 491

C. MARCU, V. STROESCU et RITTA SCHWARTZ, Action de l'imipramine sur l'activité de la gluco-déshydrogénase et du cytochrome c du broyat de cerveau de rat 499

HORST D. SCHELL, Interaction de certaines substances curarisantes fluorescentes et des protéines sériques 505

S. VASU, Comportement des coacervats protéino-pectiques en présence de la polygalacturonase 517

C. HULUŢĂ, CORINA IORDACHE, H. D. SCHELL, O. CONSTANTINESCU und V. BENEA, Das Aufgehn der Samen und der Stoffwechsel bei Eschenjungpflanzen (*Fraxinus excelsior L.*), deren Samen mit Radiophosphor — ^{32}P — Lösungen behandelt wurden 527

A. MARX, Analyse chromatographique des acides aminés de l'α-anatoxine staphylococcique purifiée, sur des résines d'échange ionique 537

EUG. PĂUNESCU, Action de l'hydrazide de l'acide isonicotinique sur l'activité réductrice de la cellule bactérienne 543

C. GURBAN et ELENA CRISTEA, Observations sur le quotient de phosphorylation dans les mitochondries du foie du rat — système oxydatif du succinate 551

COMPTES RENDUS 559

CHRONIQUE DE LA BIOCHIMIE DANS LA R.P. ROUMAINE 597

DE L'HISTOIRE DE LA BIOCHIMIE DANS LA R.P. ROUMAINE . . . 599

INDEX ALPHABÉTIQUE 605

ÉDITIONS DE L'ACADÉMIE DE LA RÉPUBLIQUE POPULAIRE ROUMAINE

АКАДЕМИЯ РУМЫНСКОЙ НАРОДНОЙ РЕСПУБЛИКИ
ИНСТИТУТ БИОХИМИИ

ТРУДЫ И ИССЛЕДОВАНИЯ ПО БИОХИМИИ

Том IV, № 4 1961

СОДЕРЖАНИЕ

Стр.

Е. МАКОВСКИ, В. ФРУНЗЕТИ и Л. БОТОШЭНЯНУ, Физико-химические и метаболические факторы при передвижении растворов в растениях 427

ЕУДЖЕНИЯ СОРУ, МАРИЯ ИСТРАТИ, ЮДИТ САБАДОШ, ДИНУ ТЭНЭСЕСКУ и МАРИЯ ПАРАСКИВЕСКУ, К вопросу об энзиматическом исследовании явления резистентности бактерий к антибиотикам. I. Цикл трикарбоксильных кислот у Mycobacterium tuberculosis BCG и его разновидностей, резистентных по отношению к стрептомицину, ПАС и ГИН 449

Л. М. БУРУИАНЭ, Е. ХАДАРАГ, А. ДЕМА и И. ДЕМА, Действие комплексного лучевого потока на эритроцитарную фосфомоноэстеразу 463

Л. М. БУРУИАНЭ, В. ПАВЛУ, И. ДЕМА, К. ДИАКОНЕСКУ и А. ДЕМА, Полярографические и электрофоретические исследования, касающиеся последствий облучения потоком нейтронов растворов сывороточных белков. 473

М. В. ИОНЕСКУ, Н. Н. СЭУЛЕСКУ, М. ИВЭНЕСКУ и М. БЫРСАН, Некоторые биохимические характеристики щуплой кукурузы 485

Н. МИСОН-КРИГЕЛ и ЕЛИЗАБЕТА КОНСТАНТИНЕСКУ, Биохимические постоянные в эфферентной крови мозга, селезенки, печени и почек собаки 491

К. МАРКУ, В. СТРОЕСКУ и РИТТА ШВАРЦ, Действие имипрамина на активность глюкозодегидрогеназы и цитохрома *C* из измельченного мозга крысы 499

ХОРСТ Д. ШЕЛЛ, Взаимодействие между некоторыми флуоресцентными кураризирующими веществами и сывороточными белками 505

С. ВАСУ, Поведение белково-пектовых коацерватов в присутствии полигалактуроназы 517

К. ХУЛУЦА, КОРИНА ИОРДАКЕ, Х. Д. ШЕЛЛ, О. КОНСТАНТИНЕСКУ и М. БЕНЯ, Всход семян и обмен веществ у саженцев *Fraxinus excelsior L.* полученных из семян, обработанных радиоактивными растворами ^{32}P 527

А. МАРКС, Хроматографический анализ на ионообменных смолах аминокислот очищенного стафилококкового α-анатоксина 537

Е. ПЭУНЕСКУ, Действие гидразида изоникотиновой кислоты на восстановительную способность бактериальной клетки 543

К. ГУРБАН и ЕЛЕНА КРИСТЯ, Наблюдения отношений фосфорилирования в митохондриях печени крысы в окислительной системе сукцината 551

РЕЦЕНЗИИ 559

ХРОНИКА БИОХИМИИ 597

ИЗ ИСТОРИИ БИОХИМИИ В РНР 599

АЛФАВИТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ 605

ИЗДАТЕЛЬСТВО АКАДЕМИИ РУМЫНСКОЙ НАРОДНОЙ РЕСПУБЛИКИ

FACTORII FIZICO-CHIMICI ŞI METABOLICI ÎN TRANSPORTUL DIFERITELOR SOLUŢII ÎN PLANTE

DE

ACADEMICIAN EUGEN MACOVSCHI, VIORICA FRUNZETI şi LILICA BOTOŞĂNEANU

În legătură cu modul de transport al substanţelor în plante, problemă de actualitate în biochimia şi fiziologia vegetală, s-au conturat pînă acum două concepţii diferite. După unii autori sistemul vaselor conducătoare care străbat organismul vegetal şi realizează legătura între organele plantei, reprezintă un sistem pasiv prin care deplasarea soluţiilor diferitelor substanţe se face datorită mai ales diferenţelor de presiune osmotică. Conform acestei concepţii, care ar putea fi numită concepţia osmotică, prin vasele conducătoare se deplasează soluţiile ca atare, adică apa împreună şi deodată cu toate substanţele dizolvate în ea (E. M ü n c h, [1]). După alţi autori vasele şi fasciculele conducătoare ale plantelor reprezintă un sistem activ în care transportul substanţelor şi apei depinde în primul rînd de metabolismul ţesuturilor conducătoare, ţesuturi care se caracterizează printr-o accentuată activitate enzimatică şi respiraţie intensă. Conform acestei concepţii, care ar putea fi numită concepţia metabolică, transportul substanţelor nu se face sub formă de soluţii ca atare, ci fiecare substanţă se deplasează prin protoplasma celulelor fasciculelor conducătoare independent una de alta şi independent de apă (W. S c h u m a c h e r [2], [3], [4]; T. G. M a s s o n [5], [6], [7]). Denumirile de „concepţie osmotică" şi „concepţie metabolică" sînt folosite curent în ultimul timp (A. L. K u r s a n o v [8]).

Deşi adepţii fiecărei concepţii în parte aduc diferite argumente pentru sprijinirea punctelor lor de vedere, problema modului de transport al substanţelor în plante nu este încă rezolvată în ansamblul ei, ceea ce de altfel este subliniat şi într-o lucrare publicată recent de O. A. P a v l i n o v a [9] după care „ambele teorii au părţi bune şi slabe, dar nu avem încă dovezi suficiente pentru a demonstra superioritatea uneia faţă de cealaltă".

Cunoașterea modului de transport al substanțelor și soluțiilor în plante prezintă un interes teoretic și practic deosebit atît pentru lămurirea acelor fenomene și procese biochimice și biologice a căror desfășurare depinde de viteza și modul de deplasare a soluțiilor și substanțelor în interiorul organismului vegetal, cît și pentru găsirea posibilităților de dirijare a acestui transport. Spre exemplificare ne putem referi la problema hibridării vegetative, al cărui mecanism nu poate fi pe deplin lămurit fără cunoașterea modului de transport al substanțelor în plante. De fapt, conform concepției miciuriniste : „între altoi și portaltoi se petrece un schimb de substanțe plastice" [10], iar substanțele elaborate în portaltoi, respectiv în altoi, se deplasează în interiorul acestui sistem și asimilația lor condiționează modificarea însușirilor ereditare ale componentelor sistemului. Este evident că de posibilitățile și felul acestei deplasări a substanțelor menționate poate să depindă reușita sau nereușita hibridării. Înseamnă că, printre factorii care intervin în procesul hibridării vegetative a plantelor prin altoire, transportul substanțelor nu poate fi neglijat. La fel se prezintă situația și în alte probleme ale biologiei vegetale.

Începînd investigațiile biochimice în domeniul hibridării vegetative a plantelor, am găsit necesar să aducem unele precizări cu privire la modul pătrunderii și transportului soluțiilor diferitelor substanțe în plante, folosind în acest scop metoda capilară [11], [12], care permite nu numai introducerea directă, continuă și îndelungată a soluțiilor și sucurilor în corpul plantelor, dar și măsurarea vitezei cu care aceste lichide pătrund în organismul vegetal. Efectuarea acestei cercetări ni s-a părut cu atît mai justificată, cu cît unele încercări preliminare au arătat că nu numai sucurile diferitelor plante pătrund în alte plante cu viteze cu totul diferite, dar chiar și viteza de pătrundere a soluțiilor în aceeași plantă poate varia de la un caz la altul [13], [14].

În ceea ce privește metoda capilară, menționăm că ea se bazează pe fixarea fie în tulpină, fie în altă parte a plantei a unui fitil al cărui capăt liber se introduce în soluția sau sucul respectiv ; prin capilaritate lichidul ajunge în plantă și trece în circuitul ei. Pentru cercetările la care ne referim în această lucrare, efectuate pe plante legumicole și floricole, am folosit fitilul format din 6—10 fire de ață de cusut din bumbac, degresată în prealabil prin fierbere cu acetonă. Capătul liber al fitilului se introducea într-un tubușor de sticlă du diametrul 5—7mm îndoit în formă de U, cu înălțimea brațelor de 3—4 cm (fig. 1) ; unul din brațe, efilat la vîrf, era îndoit în așa fel încît orificiul să vină în contact cu tulpina atunci cînd tubul este montat pe plantă (fig. 2 și 3) ; astfel se evita evaporarea soluției de pe fitil. Introducerea fitilului în tulpină se făcea cu ajutorul unui ac gros de cusut, sistemul reprezentat în figura 4, grosimea acului fiind astfel aleasă încît fitilul să nu fie strangulat de țesuturile plantei, căci aceasta ar împiedica pătrunderea soluțiilor, dar nici prea liber căci nu s-ar putea realiza contactul bun între fitil și plantă. În cazul cercetărilor descrise în această lucrare, fitilul se introducea în tulpină la acea înălțime care permitea sprijinirea tubușorului pe sol, fixînd apoi tubușorul de tulpină cu o fîșie de leucoplast. Soluțiile se introduceau în tubușoare pînă la nivelul părții efilate ; cantitatea de soluție

pătrunsă în 24 ore se completa zilnic cu o seringă gradată în zecimi de ml, pînă la nivelul inițial, măsurîndu-se astfel volumul soluției pătrunsă în plante în intervalul de timp respectiv (viteză de pătrundere).

Bazați pe unele date experimentale încă nepublicate, obținute cu ajutorul metodei capilare, cu privire la o anumită influență pe care

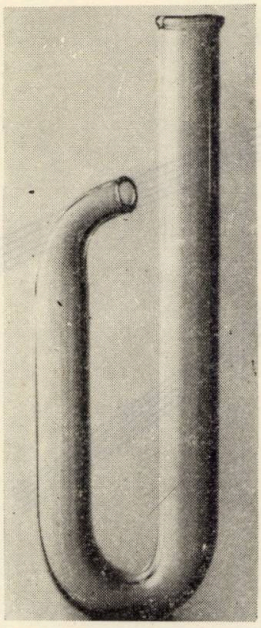


Fig. 1. — Fotografia unui tub de sticlă îndoit în formă de U.

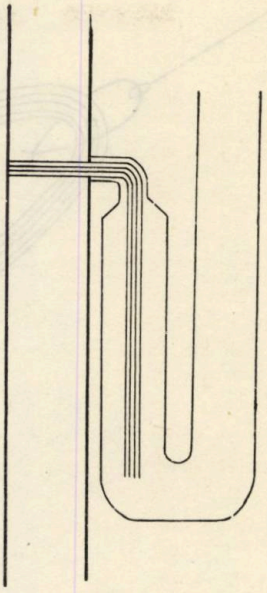


Fig. 2. — Schema unui tub cu fitil montat la tulpina unei plante.

substanțe ca vitamina C, albastrul de metilen, cloramina T, saponina și altele o exercită asupra vitezei de pătrundere a propriilor lor soluții în plante, am încercat să aducem precizări pentru a stabili natura factorilor fizico-chimici și metabolici care intervin în procesul de pătrundere a soluțiilor amintite în plante și, prin urmare a deplasării lor în interiorul organismului vegetal. Era de așteptat că în cazul cînd fasciculele vaselor conducătoare se comportă față de soluțiile introduse în tulpini prin metoda capilară ca sisteme pasive (concepția osmotică), viteza de pătrundere a soluțiilor diluate ale substanțelor amintite să nu depindă de natura substanțelor dizolvate și să fie cam aceeași cu a apei. În cazul însă cînd celulele fasciculelor conducătoare, prin metabolismul lor, intervin activ în transport (concepția metabolică) ar urma ca viteza de pătrundere a soluțiilor în tulpină să varieze în funcție de natura substanțelor dizolvate, mai exact în funcție de acțiunea acestor substanțe asupra metabolismului țesuturilor conducătoare.

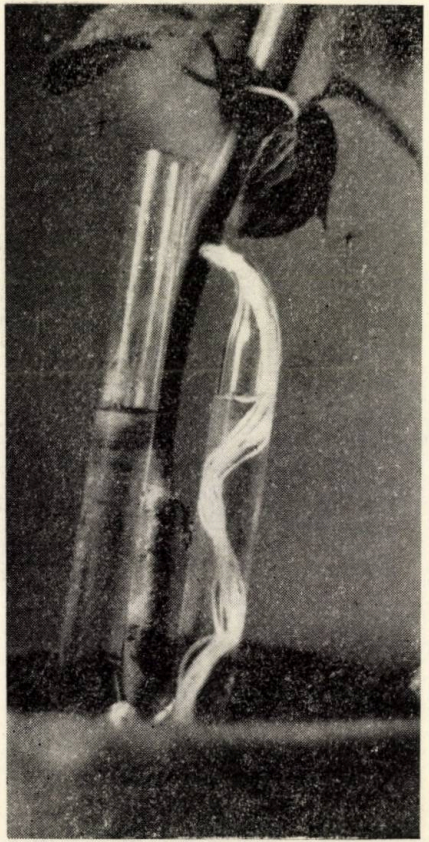


Fig. 3. — Tubul cu fitil montat la tulpina unei plante (Salvia).

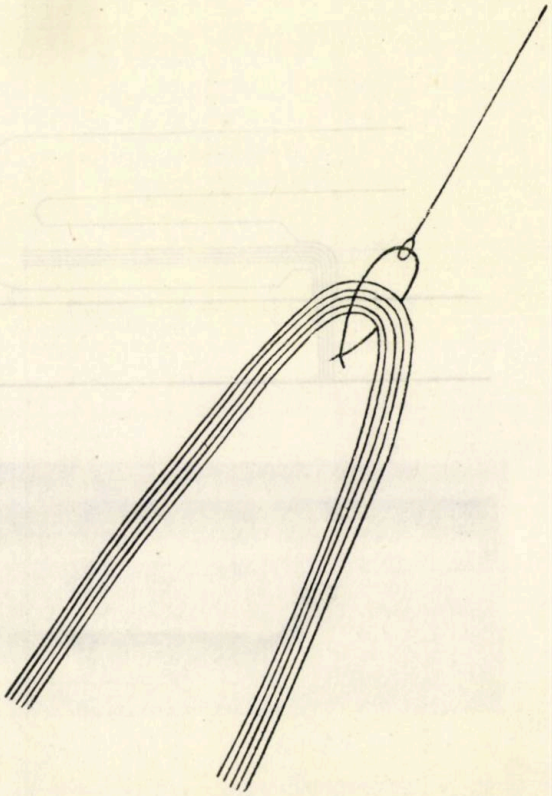


Fig. 4. — Sistemul de legătură dintre ac şi firele fitilului.

În consecință, în octombrie 1960, am efectuat o serie de determinări pe *Solanum lycopersicum* (tomate) soiul *Olandeze*, în vîrstă de 40 zile și pe *Anthirrhinum majus* (gura leului) soiul *Dakota*, în vîrstă de 150 zile, introducînd în cîte 6 plante timp de 10 zile, soluții apoase de vitamina C 2%, albastru de metilen 0,1%, cloramină T 0,1% și saponină 0,1%. Plantele în ghivece au fost menținute în laborator. Experiențele au fost repetate în luna mai 1961 pe *Solanum lycopersicum*, soiul *Seelandia*, în vîrstă de 70 zile și pe *Anthirrhinum majus*, *Hibridum sonora*, în vîrstă de 90 zile, introducînd în cîte 12 plante, timp de 5 zile, aceleași soluții ca în experiențele din octombrie 1960. De data aceasta plantele în ghivece se aflau în aer liber (terasă).

Se constată (tabela 1) că volumul soluțiilor ce pătrund în plante în decursul aceluiași interval de timp (viteza de pătrundere) variază de la caz la caz, în funcție atît de natura substanțelor dizolvate cît și

Tabela 1

Cantitatea (ml) de apă și soluții de vitamina C 2%, albastru de metilen 0,1%, cloramina T 0,1% și saponină 0,1% pătrunsă în *Solanum lycopersicum* și *Anthirrhinum majus*. Calculul statistic este efectuat pentru probabilitatea P = 0,01

	Experiența din octombrie 1960, tratament 10 zile, pe 6 plante									
	Solanum lycopersicum soiul *Olandeze*					*Anthirrhinum majus* soiul *Dakota*				
	Apa (martor)	Vitamina C	Albastrul de metilen	Cloramina T	Saponina	Apa (martor)	Vitamina C	Albastrul de metilen	Cloramina T	Saponina
Valori minime	2,3	7,7	2,2	7,8	2,5	4,0	11,7	6,1	15,2	3,4
Valori maxime	9,4	17,6	7,5	15,0	4,0	8,5	28,2	31,1	36,0	5,4
Media valorilor	6,5	11,0	5,6	12,3	3,4	6,3	20,1	16,9	28,0	4,3
Diferența față de martor	—	**4,5**	0,9	**5,8**	3,1	—	**13,8**	10,6	**21,7**	2,0
	DL = 4,1					DL = 13,0				
	Experiența din mai 1961, tratament 5 zile, pe 12 plante									
	Solanum lycopersicum soiul *Seelandia*					*Anthirrhinum majus Hibridum sonora*				
Valori minime	2,1	4,6	3,8	2,0	2,0	0,9	5,5	4,9	10,4	2,8
Valori maxime	13,8	19,2	14,3	24,6	9,3	12,4	14,2	17,0	18,2	6,9
Media valorilor	6,3	12,0	8,3	9,7	4,6	4,0	9,8	12,1	13,3	3,5
Diferența față de martor	—	**5,7**	2,0	3,4	1,7	—	**5,8**	**8,1**	**9,3**	0,5
	DL = 5,1					DL = 2,9				

de natura plantelor supuse cercetării. Astfel, soluţia vitaminei C pătrunde în ambele soiuri de *Solanum lycopersicum* şi *Anthirrhinum majus* considerabil mai repede decît apa. Soluţia albastrului de metilen pătrunde în *Anthirrhinum majus* mai repede decît apa, iar în *Solanum lycopersicum* aproximativ cu viteza apei. Situaţie similară se întîlneşte şi în cazul soluţiei de cloramină T, care în ambele soiuri de *Anthirrhinum majus*, precum şi în *Solanum lycopersicum*, soiul *Olandeze*, pătrunde mai repede, iar în *Solanum lycopersicum* soiul *Seelandia*, aproape cu aceeaşi viteză cu care pătrunde apa. În ceea ce priveşte însă soluţia de saponină, ea pătrunde în cele patru soiuri de plante aproximativ cu viteza apei. Calculul statistic efectuat după metoda *A*. Vessereau [15] pentru probabilitatea P = 0,01 arată că în toate cazurile în care s-a constatat viteza sporită de pătrundere a soluţiilor în plante, în comparaţie cu viteza de pătrundere a apei, diferenţele sînt semnificative *).

Cum este greu de admis că viteza de pătrundere a soluţiilor diluate într-un sistem pasiv de vase conducătoare ar putea depinde de natura substanţelor dizolvate, rezultă că datele obţinute de noi prin cercetarea vitezei de pătrundere a soluţiilor substanţelor amintite în plante nu pot fi interpretate de pe poziţiile concepţiei osmotice. De aceea, am încercat să interpretăm rezultatele noastre cu ajutorul concepţiei metabolice, conform căreia fasciculele conducătoare, prin metabolismul lor, participă activ la trasportul substanţelor în plante. Pentru aceasta, am luat în consideraţie cercetările din ultimul timp efectuate mai ales de A. L. Kursanov şi M. V. Turkina [16], H. Ziegler [17], J. W. Willenbrink [18], O. A. Pavlinova [9] şi alţii, după care viteza de transport a substanţelor în plante este, în general, cu atît mai mare cu cît este mai intens metabolismul, respectiv procesul respirator al ţesuturilor conducătoare, şi după care modificarea intensităţii metabolismului, respectiv a respiraţiei ţesuturilor conducătoare, se repercutează în mod corespunzător asupra vitezei de transport. Rezultatele acestor cercetări, aplicate la cercetările noastre, sugerează următoarea idee : dacă unele soluţii diluate introduse prin metoda capilară, pătrund în plante mai repede sau mai încet decît apa, aceasta s-ar putea datora faptului că substanţele din soluţii pătrunse în tulpini provoacă o intensificare, respectiv o diminuare a metabolismului şi respiraţiei ţesuturilor conducătoare. O astfel de presupunere pare cu atît mai justificată cu cît substanţele folosite de noi ar putea eventual influenţa intensitatea metabolismului tisular : vitamina C şi albastrul de metilen ca substanţe oxido-reducătoare, cloramina T ca dezinfectant, iar saponina ca substanţă toxică celulară.

Această presupunere se putea verifica introducînd în tulpinile plantelor, prin metoda capilară, atît apa cît şi soluţiile substanţelor menţionate şi determinînd pe de-o parte cantitatea soluţiilor pătrunse într-un anumit timp (viteza de pătrundere), iar pe de altă parte intensitatea procesului respirator la tulpini, de exemplu prin stabilirea consumului de oxigen. Dacă deducţiile de mai sus sînt juste ar fi de aşteptat ca în expe-

*) În tabelele acestei lucrări rezultatele semnificative sînt tipărite cu caractere groase.

rienţele în care soluţiile pătrund în plante mai repede decît apa, consumul de oxigen la tulpini să fie mai mare, iar în experienţele în care soluţiile pătrund în plante cu viteza apei, sau chiar mai încet, consumul de oxigen să fie aproximativ la fel, respectiv mai mic decît acela al tulpinilor plantelor martor tratate numai cu apă.

Unele experienţe le-am efectuat în octombrie-noiembrie 1960, în condiţii de seră, pe *Solanum lycopersicum*, *Zarea Komet*, în vîrstă de 50 zile, pe *Anthirrhinum majus* soiul *Dakota*, în vîrstă de 60 zile şi pe *Capsicum annum* (ardei) soiul *Portocalii G.A.S. Bărboşi* în vîrstă de 90 zile. Plantele au fost tratate cu soluţii de vitamina C, albastru de metilen şi cloramină T, de aceleaşi concentraţii ca în experienţele precedente. Ca martori au servit plantele tratate numai cu apă. După 48, respectiv 72 ore de tratament la *Solanum lycopersicum* (pe cîte 5 plante de variantă), 20 respectiv 40 ore la *Anthirrhinum majus* (pe cîte 3 plante) şi 72, respectiv 96 ore la *Capsicum annum* (pe cîte 5 plante), se stabilea cantitatea de soluţie absorbită, tulpinile se cîntăreau şi după măsurarea volumului lor prin cufundare în apa aflată într-un cilindru gradat, se tăiau în porţiuni de 2,0—2,5 cm lungime. În diverticolul vasului Warburg se punea 0,5 ml apă; în vasul din mijloc se introducea o hîrtie de filtru îmbibată cu 0,3 ml soluţie hidroxid de potasiu 20%, iar în interiorul vasului toate porţiunile unei tulpini. Urmărirea consumului de oxigen s-a efectuat la 30°C timp de 15, 30 respectiv 60 min, după caz.

Alte experienţe au fost efectuate în martie 1961, de asemenea în condiţii de seră, pe *Solanum lycopersicum* soiul nr. 10, în vîrstă de 60 zile, tratate timp de 96 ore cu apă şi cu soluţii de cloramină T, saponină, în concentraţiile de mai înainte. Şi de data aceasta, după stabilirea cantităţii de soluţie absorbită, se determina consumul de oxigen al tulpinilor, în condiţiile de mai sus.

În fine, în iunie 1961 a fost efectuată încă o serie de determinări pe plante ţinute în ghivece, în aer liber (terasă) şi anume pe *Solanum lycopersicum* soiul *Seelandia*, în vîrstă de 45 zile şi pe *Anthirrhinum majus*, *Hibridum sonora*, în vîrstă de 90 zile. Şi de data aceasta am introdus în plante aceleaşi soluţii de vitamină C, cloramină T, albastru de metilen şi saponină. După 4 zile de tratament cu vitamina C şi cloramină T şi după 5 zile de tratament cu albastru de metilen şi saponină, atît la tulpinile de *Solanum lycopersicum* cît şi la cele de *Anthirrhinum majus* am determinat consumul de oxigen, procedînd ca mai sus.

Rezultatele obţinute în determinările efectuate în iunie 1961 sînt trecute în tabela 2*), iar rezultatele tuturor celorlalte determinări (octombrie-noiembrie 1960 şi martie 1961) sînt prezentate sumar în tabela 3. Din examinarea tuturor acestor date se constată că cel puţin în condiţiile determinărilor noastre, între cantitatea de soluţie ce pătrunde în plante prin metoda capilară, în decursul unui timp dat, şi intensitatea consumului de oxigen la tulpini pare să nu existe vreo relaţie directă de interdependenţă.

*) Pentru a ilustra domeniul de variaţie al valorilor individuale ce se obţin în experienţele noastre cu metoda capilară, am socotit necesar să prezentăm rezultatele unor serii de experienţe mai amănunţit (a se vedea tabelele 2 şi 4) aceasta cu atît mai mult cu cît lucrarea de faţă este prima de acest gen pe care o publicăm.

Tabela 2

Cantitatea (ml) de apă şi soluţii de vitamina C 2%, albastru de metilen 0,1%, cloramina T 0,1% şi saponină 0,1% pătrunsă în *Solanum lycopersicum* şi *Anthirrhinum majus* precum şi consumul de oxigen (µl/1g material proaspăt) la tulpini, după tratament de 4 respectiv 5 zile (iunie 1961)
Calculul statistic este efectuat pentru probabilitatea P = 0,01

Planta nr.	*Solanum lycopersicum* soiul *Seelandia*											
	Tratament 4 zile						Tratament 5 zile					
	Apa (martor)		Vitamina C		Cloramina T		Apa (martor)		Albastru de metilen		Saponina	
	ml	µl O_2	ml	µl O_2	ml	µl O_2	ml	µl O_2	ml	µl O_2	ml	µl O_2
1	3,6	50	19,0	64	14,4	86	16,7	65	4,7	37	4,8	43
2	9,0	61	14,8	52	13,0	87	11,9	74	11,6	44	2,6	48
3	11,3	68	16,3	65	10,7	64	14,1	63	19,2	51	4,1	66
4	9,5	72	15,0	83	11,0	92	11,2	59	16,0	51	6,5	78
5	14,2	43	16,3	58	13,9	101	9,3	43	9,2	54	5,2	48
6	7,4	46	13,9	54	16,7	92	17,8	40	13,6	17	12,8	65
7	13,4	64	15,4	76	17,1	79	4,5	51	9,4	100	9,4	53
8	3,1	61	14,7	74	18,2	84	3,9	63	12,4	76	12,4	76
Media	8,9	58	15,7	66	14,3	86	11,2	57	12,0	54	7,2	60
Diferenţa faţă de martor	—	—	**6,8**	8	**5,4**	**28**	—	—	0,8	3	4,0	3
DL	—	—	4,3	16	4,3	16	—	—	6,4	25	6,4	25
	Anthirrhinum majus Hibridum sonora											
	Tratament 4 zile						Tratament 5 zile					
1	3,2	61	5,5	35	10,6	98	4,0	61	12,4	109	3,6	116
2	3,1	67	9,8	42	18,2	125	5,1	81	14,4	142	4,1	106
3	3,4	83	10,7	43	14,9	88	1,4	72	12,4	104	4,1	104
4	3,5	132	10,0	46	13,7	76	3,3	79	9,1	139	3,5	131
5	2,9	113	10,7	46	12,3	139	13,0	124	4,9	77	4,6	71
6	2,9	70	7,5	63	10,9	139	5,2	86	16,0	104	6,0	66
7	4,1	81	11,1	53	11,7	110	3,7	55	13,7	131	6,7	121
Media	3,3	87	9,3	47	13,2	111	5,1	60	11,8	115	4,7	105
Diferenţa faţă de martor	—	—	**6,0**	**40**	**9,9**	24	—	—	**6,7**	**35**	0,4	25
DL	—	—	3,0	33	3,0	33	—	—	3,1	34	3,1	34

Într-adevăr, avem cazuri cînd soluţiile pătrund în plante mai repede decît apa, deşi consumul de oxigen al tulpinilor rămîne practic egal cu cel al plantelor martor tratate numai cu apă. Astfel sînt rezultatele experienţelor pe : *Solanum lycopersicum* soiul *Seelandia* după 4 zile de tratament cu soluţie de vitamina C, în iunie 1961 (tabela 2); *Solanum lycopersicum* soiul nr. 10, după tratament de 96 ore cu soluţie de cloramina T, în martie 1961 (tabela 3); *Anthirrhinum majus*, *Hibridum*

Tabela 3

Cantitatea (ml) de apă şi soluţii de vitamina C 2%, albastru de metilen 0,1%, cloramina T 0,1% şi saponină 0,1% pătrunsă în *Solanum lycopersicum*, *Anthirrhinum majus* şi *Capsicum annuum*, precum şi consumul de oxigen la tulpini (µl/1g material proaspăt) după terminarea tratamentului (octombrie 1960, martie-iunie 1961). Calculul statistic este efectuat pentru probabilitatea P = 0,01

	Solanum lycopersicum, *Zarea Komet*, octombrie 1960 : tratament 48 ore ; experienţe pe 5 plante									
	Apa		Vitamina C		Albastru de metilen		Cloramina T		Saponina	
	ml	µl O_2	ml	µl O_2	ml	µl O_2	ml	µl O_2	ml	µl O_2
Valori minime	1,5	64	1,2	50	0,5	77	0,2	50	—	—
Valori maxime	1,7	109	2,0	100	1,5	80	2,4	113	—	—
Media valorilor	1,6	81	1,6	70	1,0	80	1,4	85	—	—
Diferenţa faţă de martor	—	—	0,0	11	0,6	1	0,2	4	—	—
DL	—	—	1,2	34	1,2	34	1,2	34	—	—
Solanum lycopersicum, *Zarea Komet*, octombrie 1960 : tratament 72 ore ; experienţe pe 5 plante										
Valori minime	2,5	60	0,7	75	1,0	82	0,4	80	—	—
Valori maxime	4,7	95	1,5	100	2,4	125	2,0	130	—	—
Media valorilor	3,1	80	1,1	83	1,6	103	1,4	101	—	—
Diferenţa faţă de martor	—	—	**2,0**	3	**1,5**	23	**1,7**	21	—	—
DL	—	—	1,2	27	1,2	27	1,2	27	—	—
Solanum lycopersicum, soiul nr. 10, martie 1961 : tratament 96 ore ; experienţe pe 5 plante										
Valori minime	2,0	55	—	—	—	—	4,5	56	2,6	60
Valori maxime	3,3	76	—	—	—	—	10,7	73	6,8	75
Media valorilor	2,5	69	—	—	—	—	7,1	65	4,0	69
Diferenţa faţă de martor	—	—	—	—	—	—	**4,6**	4	1,5	0
DL	—	—	—	—	—	—	3,3	14	3,3	14

Anthirrchinum majus, soiul *Dakota*, noiembrie 1960 : tratament 20 ore ; experienţe pe 3 plante

Valori minime	2,2	95	1,4	114	1,5	101	1,8	130	—	—
Valori maxime	2,2	116	1,5	136	3,0	123	1,8	158	—	—
Media valorilor	2,2	105	1,4	123	2,5	112	1,8	143	—	—
Diferenţa faţă de martor	—	—	0,8	18	0,5	7	0,4	**38**	—	—
DL	—	—	1,1	29	1,1	29	1,1	29	—	—

Anthirrhinum majus, soiul *Dakota*, noiembrie 1960 : tratament 40 ore ; experienţe pe 3 plante

Valori minime	0,7	70	2,2	123	2,8	103	2,4	132	—	—
Valori maxime	3,0	112	3,8	131	4,5	137	3,0	165	—	—
Media valorilor	1,6	93	2,9	126	3,6	118	2,6	146	—	—
Diferenţa faţă de martor	—	—	1,3	33	**2,0**	25	1,0	**53**	—	—
DL	—	—	2,0	41	2,0	41	2,0	41	—	—

Capsicum annuum, soiul *Portocalii G.A.S. Bărboşi*, noiembrie 1960 : tratament 72 ore ; experienţe pe 5 plante

Valori minime	0,9	123	2,1	145	2,1	183	1,8	255	—	—
Valori maxime	2,1	276	2,5	286	4,5	361	3,8	299	—	—
Media valorilor	1,6	163	2,3	220	3,2	259	2,7	262	—	—
Diferenţa faţă de martor	—	—	0,7	57	**1,6**	96	1,1	99	—	—
DL	—	—	1,2	100	1,2	100	1,2	100	—	—

Capsicum annuum, soiul *Portocalii G.A.S. Bărboşi*, noiembrie 1960 : tratament 96 ore ; experienţe pe 5 plante

Valori minime	1,5	85	1,5	70	1,7	133	2,7	128	—	—
Valori maxime	2,0	175	3,5	118	5,4	223	3,8	191	—	—
Media valorilor	1,8	135	2,7	97	3,8	175	3,2	149	—	—
Diferenţa faţă de martor	—	—	0,9	38	**2,0**	40	1,4	14	—	—
DL	—	—	1,7	75	1,7	75	1,7	75	—	—

sonora după 4 zile de tratament cu soluție de cloramina T, în iunie 1961 (tabela 2); *Anthirrhinum majus*, soiul *Dakota*, după 40 ore de tratament cu albastru de metilen, în noiembrie 1960 (tabela 3); *Capsicum annuum* soiul *Portocalii G.A.S. Bărboși*, atît după 72 ore cît și după 96 ore de tratament cu albastru de metilen, în noiembrie 1960 (tabela 3).

Și mai ilustrative ni se par cazurile cînd pătrunderea mai rapidă a soluțiilor în plante, în comparație cu apa, este însoțită de scăderea consumului de oxigen la tulpini, cum sînt rezultatele experiențelor pe *Anthirrhinum majus*, *Hibridum sonora*, după 4 zile de tratament cu vitamina C, în iunie 1961 (tabela 2).

În unele experiențe am mai putut constata că pătrunderea mai rapidă a soluțiilor decît a apei în plante este însoțită de o creștere a consumului de oxigen la tulpini, ceea ce ar corespunde concepției metabolice; aceasta s-a constatat pe de-o parte la *Solanum lycopersicum* soiul *Seelandia*, după 4 zile de tratament cu cloramina T (tabela 2) și la *Anthirrhinum majus*, *Hibridum sonora* după 5 zile de tratament cu albastru de metilen (tabela 2). Ambele experiențe au fost efectuate în iunie 1961.

Avem și cazuri cînd atît viteza de pătrundere a soluțiilor în plante, cît și consumul de oxigen la tulpini rămîn în aceleași limite ca la plantele martor în care s-a introdus numai apă. În această categorie de experiențe se încadrează rezultatele obținute pe *Solanum lycopersicum* soiul *Seelandia*, după 5 zile de tratament cu albastru de metilen și saponină, în iunie 1961 (tabela 2); *Solanum lycopersicum*, *Zarea Komet*, după 48 ore de tratament cu soluții de vitamina C, albastru de metilen și cloramină T; *Solanum lycopersicum*, soiul nr. 10, după 96 ore de tratament cu soluții de saponină, în martie 1960 (tabela 3); *Anthirrhinum majus*, *Hibridum sonora*, după 5 zile de tratament cu soluție de saponină, iunie 1961 (tabela 2); *Anthirrhinum majus*, soiul *Dakota*, atît după 20 ore de tratament cu vitamina C și albastru de metilen, cît și după 40 ore de tratament cu soluții de vitamină C, în noiembrie 1960 (tabela 3) și, în fine, pe *Capsicum annuum*, soiul *Portocalii G.A.S. Bărboși*, atît după 72 ore, cît și după 96 ore de tratament cu soluții de vitamina C și cloramina T, în noiembrie 1960 (tabela 3).

Am mai constatat că unele soluții pătrund în plante fie cu aceeași viteză ca și apa, iar consumul de oxigen la tulpini este mărit, deși conform concepției metabolice era de așteptat să nu fie modificat, fie soluțiile pătrund mai încet decît apa, deși consumul de oxigen la tulpini este asemănător cu acel al plantelor martor. Prima situație am întîlnit-o la experiențe pe *Anthirrhinum majus*, soiul *Dakota*, atît după 20 cît și după 40 ore de tratament cu soluții de cloramină T, iar a doua la experiențe pe *Solanum lycopersicum*, *Zarea Komet*, după 72 ore de tratament cu soluție de vitamina C, albastru de metilen și cloramină T, în octombrie 1960 (tabela 3).

Menționăm că în toate cazurile examinate s-a ținut seama la interpretarea rezultatelor numai de diferențele semnificative date de calculul statistic pentru probabilitatea $P = 0{,}01$.

Rezultatele obținute arată că între cantitatea de soluție care pătrunde în plantă prin metoda capilară în decursul unui timp dat și intensitatea

consumului de oxigen la tulpini nu există o relaţie directă. Prin urmare, dacă datele obţinute de noi cu privire la pătrunderea apei şi soluţiilor de vitamină C, albastru de metilen, cloramină T şi saponină în plante, în condiţiile metodei capilare, nu pot fi interpretate, după cum s-a arătat, de pe poziţiile concepţiei osmotice, ele nu pot fi interpretate nici de pe poziţiile concepţiei metabolice.

Totuşi, după cum s-a amintit în literatură, există suficiente date care dovedesc că metabolismul ţesuturilor conducătoare poate interveni activ în procesul de transport al substanţelor în plante. În bună parte aceste date au fost obţinute de diferiţi autori prin inhibarea şi chiar blocarea procesului respirator al ţesuturilor conducătoare cu arsenit de sodiu, 2, 4-dinitrofenol şi alţi produşi cu acţiuni similare (J. Willenbrink [18]). S-a constatat că sub acţiunea acestor inhibitori ai procesului respirator, şi deci ai metabolismului, transportul diferitelor substanţe prin fasciculele conducătoare din peţiolul frunzelor diferitelor plante se restrînge considerabil, chiar pînă la oprire totală.

Cum însă inhibitorii menţionaţi acţionează asupra metabolismului vaselor conducătoare printr-un alt mecanism decît vitamina C, cloramina T, albastrul de metilen, saponina — substanţe utilizate de noi, nu ar fi exclus ca deosebirile dintre constatările autorilor menţionaţi şi ale noastre să se datorească tocmai acestui fapt. De aceea, am socotit necesar să stabilim dacă inhibitorii enzimelor respiratorii introduşi în tulpini prin metoda capilară, pot exercita asupra vitezei de pătrundere a soluţiilor lor sau a apei o acţiune asemănătoare cu aceea exercitată de ei asupra vitezei de transport a diferitelor substanţe prin vasele conducătoare ale peţiolului. Ar urma ca ajungînd în tulpini, inhibitorii enzimelor respiratorii o dată cu reducerea consumului de oxigen, să provoace scăderea vitezei de pătrundere a soluţiilor respective în plante.

În consecinţă, am efectuat o serie de experienţe pe diferite plante, introducînd în ele prin metoda capilară soluţii de arsenit de sodiu şi 2,4-dinitrofenol şi urmărind atît viteza de pătrundere a soluţiilor în plante în comparaţie cu apa, cît şi consumul de oxigen la tulpini.

Unele experienţe au fost executate în decembrie 1960, în condiţii de seră pe *Solanum lycopersicum*, *Zarea Komet*, în vîrstă de 50 zile, pe *Anthirrhinum majus*, soiul *Dakota*, în vîrstă de 45 zile şi pe *Capsicum annuum*, soiul *Portocalii G.A.S. Bărboşi*, în vîrstă de 90 zile. Serii de cîte 6 plante au fost tratate timp de 24, 48 şi 72 ore cu soluţii de arsenit de sodiu 10^{-2} M şi 2,4-dinitrofenol 10^{-3} şi 10^{-2} M. Plantele tratate cu apă au constituit probele martor. Imediat după încetarea tratamentului tulpinile plantelor au fost tăiate în 4, 5, 6 porţiuni, în greutate cuprinsă aproximativ între 0,8—1,0 g, şi au fost introduse în vasele Warburg pentru urmărirea consumului de oxigen în condiţiile menţionate la experienţele precedente.

La fel s-a procedat şi într-o altă serie de experienţe efectuate în iunie 1961, pe plante în ghivece ce se aflau în aer liber (terasă), şi anume pe *Solanum lycopersicum*, soiul *Bizon*, în vîrstă de 60 zile şi *Capsicum annuum*, soiul *Portocalii G.A.S. Bărboşi*, în vîrstă de 90 zile. Pentru

tratament s-au folosit de asemenea soluții de arsenit de sodiu 10^{-2} M și de 2,4-dinitrofenol 10^{-2} M, plantele martor fiind tratate cu apă.

Rezultatele obținute în experiențele efectuate în iunie 1961 sînt trecute în tabela 4, iar rezultatele celorlalte determinări, din decembrie 1960, sînt prezentate sumar în tabela 5. Toate aceste date arată că cel puțin în cazul determinărilor noastre, între viteza de pătrundere a soluției de inhibitori ai enzimelor respiratorii în plantă, prin metoda capilară,

Tabela 4

Experiențe pe plante nesupuse unui tratament prealabil. Cantitatea (ml) de apă și soluții de arsenit de sodiu 10^{-2} M și 2,4-dinitrofenol 10^{-2} M pătrunsă în *Solanum lycopersicum* în 24 ore și în *Capsicum annuum* în 48 ore, precum și consumul de oxigen (µl/1 g material proaspăt) la tulpini la sfîrșitul experienței (iunie 1961) Calculul statistic este efectuat pentru probabilitatea P = 0,01

Planta nr.	*Solanum lycopersicum* soiul *Bizon*						*Capsicum annuum* soiul *Portocalii G.A.S. Bărboși*					
	Apa (martor)		Arsenit de sodiu		2,4-dinitrofenol		Apa (martor)		Arsenit de sodiu		2,4-dinitrofenol	
	ml	µl O_2	ml	µl O_2	ml	µl O_2	ml	µl O_2	ml	µl O_2	ml	µl O_2
1	0,5	54	1,0	33	0,5	101	1,7	172	1,8	74	2,7	0
2	1,3	61	1,0	59	1,0	62	1,1	132	0,8	31	2,2	0
3	1,0	59	0,5	20	0,4	17	1,0	118	1,2	38	1,0	69
4	1,6	42	0,5	12	0,4	57	2,3	81	4,5	55	2,2	122
5	1,8	52	0,7	20	1,4	88	2,3	323	0,4	73	1,2	82
6	3,0	33	1,2	50	4,0	3	1,9	195	1,3	14	1,6	39
7	0,8	50	0,8	18	1,2	7	1,7	185	1,2	48	4,1	45
Media valorilor	1,4	50	0,8	30	1,3	48	1,7	172	1,6	48	2,1	51
Diferența față de martor	—	—	0,6	20	0,1	2	—	—	0,1	**124**	0,4	**121**
DL	—	—	1,3	40	1,3	40	—	—	1,6	73	1,6	73

și intensitatea consumului de oxigen la tulpini pare să nu existe vreo interdependență directă.

Într-adevăr, într-o serie de experiențe, atît arsenitul de sodiu cît și 2,4-dinitrofenolul au provocat o puternică scădere a consumului de oxigen la tulpini, fără ca viteza de pătrundere a soluțiilor lor în plante să fie semnificativ modificată în comparație cu viteza de pătrundere a apei. Astfel sînt rezultatele experiențelor pe *Solanum lycopersicum* după 48 ore de tratament (decembrie 1960, tabela 5), și pe *Capsicum annuum* după 40 ore (iunie 1960, tabela 4) și 72 ore de tratament (decembrie 1960, tabela 5).

Într-o altă serie de experiențe viteza de pătrundere a soluțiilor de asemenea nu s-a modificat față de apă, deși arsenitul de sodiu a provocat o scădere semnificativă a consumului de oxigen, iar 2,4-dinitrofenolul nu a exercitat nici o influență în acest sens. Astfel de comportări s-au constatat în experiențele pe : *Solanum lycopersicum* după 72 ore de tra-

Tabela 5

Cantitatea (ml) de apă și soluții de arsenit de sodiu 10^{-3} M și 2,4-dinitrofenol 10^{-3} și 10^{-2} M pătrunsă în *Solanum lycopersicum*, *Anthirrhinum majus* și *Capsicum annuum*, precum și consumul de oxigen (µl/l g material proaspăt) la tulpini după terminarea tratamentului (decembrie 1960). Calculul statistic este efectuat pentru probabilitatea P = 0,01

	Solanum lycopersicum, *Zarea Komet*, tratament 48 ore, experiențe pe 5 plante							
	Apa (martor)		Arsenit de sodiu 10^{-3} M		2,4-Dinitrofenol 10^{-3} M		2,4-Dinitrofenol 10^{-2} M	
	ml	µl O_2	ml	µl O_2	ml	µl O_2	ml	µl O_2
Valori minime	1,5	71	0,4	4	—	—	0,5	0
Valori maxime	1,7	93	0,9	10	—	—	1,7	66
Media valorilor	1,6	81	0,6	8	—	—	1,0	33
Diferența față de martor	—	—	1,0	**73**	—	—	0,6	**48**
DL	—	—	2,2	31	—	—	2,2	31
	Solanum lycopersicum, *Zarea Komet*, tratament 72 ore, experiențe pe 5 plante							
Valori minime	0,0	53	1,2	0	—	—	0,7	0
Valori maxime	3,0	109	1,5	17	—	—	1,1	81
Media valorilor	2,1	78	1,3	6	—	—	1,3	41
Diferența față de martor	—	—	0,8	**72**	—	—	0,8	37
DL	—	—	1,5	47	—	—	1,5	47
	Anthirrhinum majus, soiul *Dakota*, tratament 24 ore, experiențe pe 6 plante							
Valori minime	0,3	181	0,5	17	0,4	193	—	—
Valori maxime	1,8	246	1,4	98	1,1	310	—	—
Media valorilor	1,0	206	1,0	48	0,7	256	—	—
Diferența față de martor	—	—	0,0	**158**	0,3	50	—	—
DL	—	—	0,7	54	0,7	54	—	—

Anthirrhinum majus, soiul *Dakota*, tratament 48 ore, experienţe pe 6 plante

Valori minime	1,0	200	1,0	0	0,4	163	—	—
Valori maxime	2,4	260	1,5	29	3,0	284	—	—
Media valorilor	1,5	217	1,3	19	1,5	238	—	—
Diferenţa faţă de martor	—	—	0,2	**198**	0,0	21	—	—
DL	—	—	1,0	52	1,0	52	—	—

Capsicum annuum, soiul *Portocalii G.A.S. Bărboşi*, tratament 48 ore, experienţe pe 5 plante

Valori minime	0,6	126	0,0	28	0,5	69	1,0	20
Valori maxime	1,3	145	1,3	47	1,5	260	2,4	35
Media valorilor	0,9	134	0,6	40	1,0	137	1,5	26
Diferenţa faţă de martor	—	—	0,3	**94**	0,1	3	0,6	**108**
DL	—	—	0,8	76	0,8	76	0,8	76

Capsicum annuum, soiul *Portocalii G.A.S. Bărboşi*, tratament 72 ore, experienţe pe 5 plante

Valori minime	1,2	112	0,6	23	1,2	22	1,5	15
Valori maxime	2,0	183	1,8	81	2,1	81	2,3	64
Media valorilor	1,7	118	1,2	43	1,6	43	2,0	35
Diferenţa faţă de martor	—	—	0,5	**75**	0,1	**75**	0,3	**83**
DL	—	—	0,7	47	0,7	47	0,7	47

tament, *Anthirrhinum majus* după 24 şi 48 ore de tratament şi *Capsicum annuum* după 48 ore de tratament (decembrie 1960, tabela 5).

În fine, am avut şi cazuri cînd inhibitorii enzimelor respiratorii nu au influenţat nici viteza de pătrundere a soluţiilor în tulpini şi nici consumul de oxigen al tulpinilor. Aşa s-au comportat *Solanum lycopersicum*, soiul *Bizon*, după 24 ore de tratament cu arsenit de sodiu şi 2,4-dinitrofenol (iunie 1961, tabela 4).

Ca şi în cazul determinărilor făcute cu soluţii de vitamina C, albastru de metilen, cloramina T şi saponină, şi de data aceasta la interpretarea rezultatelor s-a ţinut seama numai de diferenţele semnificative date de calculul statistic pentru probabilitatea P = 0,01. După cum se constată din rezultatele de mai sus, inhibitorii enzimelor respiratorii nu au influenţat viteza de pătrundere a soluţiilor lor în plante nici măcar în cazurile cînd au produs o puternică inhibiţie a consumului de oxigen la tulpini.

Pentru completarea cercetărilor în această direcţie, am mai efectuat o altă variantă a experienţelor menţionate şi anume măsurînd cantitatea de apă ce pătrunde în plante după o prealabilă intoxicare a lor cu arsenit de sodiu şi 2,4-dinitrofenol. În acest scop am introdus întîi soluţiile inhibitorilor amintiţi pînă la frînarea puternică a consumului de oxigen la tulpini, şi înlocuind apoi soluţiile toxice cu apa, am urmărit viteza de pătrundere a acesteia în plante, prin acelaşi fitil. În aceste condiţii apa pătrundea în planta în prealabil intoxicată, pe cînd în experienţele precedente pătrunderea apei şi a soluţiilor se făcea paralel cu instalarea procesului de intoxicare.

Cercetările au fost efectuate în iunie 1961 pe plante în ghivece ce se aflau în aer liber (terasă), şi anume pe *Solanum lycopersicum*, soiul *Bizon*, în vîrstă de 60 zile şi pe *Capsicum annuum*, soiul *Portocalii G.A.S. Bărboşi*, în vîrstă de 90 zile. În cîte 7 plante au fost introduse soluţii de arsenit de sodiu 10^{-2} M, 2,4-dinitrofenol 10^{-2} M şi apă distilată. După 24 ore de tratament la *Solanum lycopersicum* şi 42 ore la *Capsicum annuum*, soluţiile toxice din tuburi au fost înlocuite cu apă distilată şi s-au urmărit cantităţile de apă ce au pătruns în plante în decursul următoarelor 24 ore în *Solanum lycopersicum* şi 46 ore în *Capsicum annuum*. Apoi a fost determinat consumul de oxigen la tulpini, în condiţiile descrise în experienţele precedente. Datele obţinute sînt trecute în tabela 6. Faptul că de data aceasta apa a pătruns în plante la care consumul de oxigen a fost în prealabil micşorat, este dovedit de rezultatele altor experienţe efectuate paralel cu acestea şi trecute în tabela 4, conform cărora tulpinile de *Solanum lycopersicum* după 24 ore de tratament şi cele de *Capsicum annuum* după 48 ore de tratament cu aceleaşi soluţii de arsenit de sodiu şi 2,4-dinitrofenol, prezintă o scădere semnificativă a consumului de oxigen.

Din examinarea materialului prezentat în tabela 6 rezultă că deşi la ambele feluri de plante cei doi inhibitori ai enzimelor respiratorii au produs o puternică frînare a consumului de oxigen la tulpini, nu s-a ajuns totuşi la scăderea vitezei de pătrundere a apei în plante decît într-un singur caz. Într-adevăr, în experienţele pe *Solanum lycopersicum* scăderea foarte semnificativă a consumului de oxigen la tulpini a fost însoţită de

Tabela 6

Experiențe pe 7 plante tratate în prealabil cu apă și soluții de arsenit de sodiu 10^{-2} M și 2,4-dinitrofenol 10^{-2} M timp de 24 ore la *Solanum lycopersicum* și 42 ore la *Capsicum annuum*. Cantitatea (ml) de apă pătrunsă în *Solanum lycopersicum* în decurs de 24 ore, respectiv în *Capsicum annuum* în decurs de 46 ore după terminarea tratamentului, precum și consumul de oxigen (µl/1g material proaspăt) la tulpini după terminarea experienței (iunie 1961). Calculul statistic este efectuat pentru probabilitatea P = 0,01

	Solanum lycopersicum soiul *Bizon*						*Capsicum annuum* soiul *Portocalii G.A.S. Bărboși*					
	Apa (martor)		Arsenit de sodiu		2,4-Dinitrofenol		Apa (martor)		Arsenit de sodiu		2,4-Dinitrofenol	
	ml	µl O_2	ml	µl O_2	ml	µl O_2	ml	lO_2	ml	µl O_2	ml	µl O_2
Valori minime	1,0	41	0,5	0	1,0	0	0,7	105	1,3	77	2,3	13
Valori maxime	1,5	61	1,0	83	2,5	4	1,4	224	3,4	137	3,6	43
Media valorilor	1,3	52	0,7	20	1,7	0,7	1,1	162	2,2	101	3,0	26
Diferența față de martor	—	—	0,6	**32**	0,4	**51**	—	—	**1,1**	**61**	**1,9**	**136**
DL	—	—	2,0	27	2,0	27	—	—	1,0	44	1,0	44

o scădere semnificativă a vitezei de pătrundere a apei numai în cazul intoxicației cu arsenit de sodiu și de o tendință pronunțată de creștere a aceleiași viteze în cazul intoxicației cu 2,4-dinitrofenol, iar în experiențele pe *Capsicum annuum* restrîngerea puternică a consumului de oxigen la tulpini, în cazul ambelor tratamente, a fost însoțită, contrar așteptărilor de o creștere foarte semnificativă a vitezei de pătrundere a apei.

Dacă luăm acum în considerare întregul material experimental prezentat în această lucrare, constatăm că nici una din cele două concepții actuale cu privire la modul de trasport al substanțelor în plante nu permite interpretarea integrală a datelor obținute de noi. Mai mult, unele dintre rezultatele noastre sînt chiar contrarii celor scontate pe baza concepțiilor menționate.

Aceasta se datorește în primul rînd faptului că noi am cercetat viteza de pătrundere a apei și a diferitelor soluții în tulpinile unor plante legumicole și floricole în condițiile metodei capilare, pe cînd cercetările efectuate de diferiți autori în legătură cu deplasarea unor substanțe și soluții de-a lungul fasciculelor și vaselor conducătoare s-au făcut în alte condiții experimentale și s-au referit în general fie la substanțe și sucuri existente în interiorul plantelor, fie la cele introduse în plante prin alte mijloace. Această deosebire în tehnica de cercetare are desigur importanța ei și se repercutează într-un fel sau altul asupra rezultatelor ce se obțin. Dar nu este mai puțin adevărat că viteza de pătrundere a apei și a diferitelor soluții în plante, în condițiile metodei capilare, depinde în cea mai mare măsură de viteza cu care lichidul pătruns în plantă se deplasează mai departe în aceasta sub influența factorilor locali respectivi. Prin urmare, cu toată deosebirea dintre modurile de cercetare, există

totuşi posibilitatea comparării datelor experimentale obţinute pe aceste căi diferite. Aşa de exemplu se poate afirma că 2,4-dinitrofenolul ca inhibitor al enzimelor respiratorii acţionează în mod diferit asupra transportului substanţelor în plante, atît în funcţie de locul unde este aplicat, cît şi în funcţie de natura materialului care este transportat. Astfel, la nivelul vaselor conducătoare din peţiolul frunzelor de *Pelargonium zonale* o dată cu restrîngerea consumului de oxigen, 2,4-dinitrofenolul provoacă încetinirea transportului fluoresceinei şi altor substanţe (J. Willenbrink [18]), pe cînd la nivelul tulpinilor de *Capsicum annuum* acelaşi inhibitor al enzimelor respiratorii, o dată cu restrîngerea consumului de oxigen, accelerează puternic deplasarea apei introduse prin metoda capilară. De aici se poate trage concluzia că între procesul de transport al fluoresceinei în fasciculele conducătoare din peţiolul frunzelor de *Pelargonium zonale* şi procesul de transport al apei în tulpinile de *Capsicum annuum* există o deosebire calitativă. Faptul acesta arată că rezultatele experimentale obţinute în anumite condiţii de cercetare şi pe un anumit material biologic nu pot fi extinse, fără o cercetare prealabilă, asupra altor condiţii experimentale şi asupra altui material, şi generalizarea în acest domeniu important cere multă prudenţă.

În al doilea rînd, unele deosebiri între rezultatele obţinute de noi în experienţele de introducere a aceleiaşi soluţii în plante de natură diferită, de exemplu pătrunderea mult mai rapidă decît a apei a soluţiei de albastru de metilen 0,1% în *Anthirrhinum majus* şi pătrunderea cu aceeaşi viteză ca a apei în *Solanum lycopersicum* (tabela 2), precum şi unele deosebiri dintre rezultatele cercetărilor noastre şi ale altor autori (de exemplu, în experienţele noastre pe *Capsicum annuum*, 2,4-dinitrofenolul a provocat o puternică accelerare a vitezei de pătrundere a apei în tulpini, pe cînd în experienţele pe *Pelargonium zonale*, efectuate de J. Willenbrink, acelaşi produs a determinat o scădere considerabilă a transportului substanţelor cu azot) s-ar mai putea datora şi faptului că s-a experimentat pe plante avînd vase, respectiv fascicule conducătoare diferite.

Or, este evident că modul şi posibilităţile de transport prin vase depind nu numai de natura şi structura acestora, dar şi de starea lor evolutivă şi funcţională. Din acest punct de vedere se pot distinge două cazuri extreme, cu toată gama de treceri între ele. Unul dintre aceste cazuri extreme este reprezentat de vase conducătoare alcătuite din celule vii pline cu protoplasmă; prin astfel de vase nici apa şi nici soluţiile ca atare nu pot trece direct. Venind în contact cu protoplasma acestor vase, atît apa cît şi eventualele substanţe dizolvate în ea sînt absorbite întîi de protoplasmă şi abia atunci începe transportul lor în interiorul protoplasmei, fiecare substanţă deplasîndu-se independent una de alta, în funcţie de raporturile dintre ele şi metabolismul respectiv. În aceste condiţii, o anumită contribuţie la transportul substanţelor pot aduce şi curenţii protoplasmatici (în sensul vechilor concepţii ale lui De Vries) a căror intensitate depinde de asemenea de aceea a metabolismului celular. Celălalt caz extrem apare la elementele conducătoare ale căror celule sînt complet lipsite de protoplasmă datorită procesului evolutiv

pe care l-au parcurs. Astfel de vase pot fi străbătute de apă și de soluții fără nici o dificultate, transportul respectiv făcîndu-se sub acțiunea factorilor fizico-chimici, deci fără participarea directă a metabolismului; cel mult pot interveni fenomene metabolice din țesuturile învecinate vii. Este evident că în cazurile intermediare, la transportul soluțiilor și substanțelor prin vase pot contribui simultan atît factorii metabolici cît și cei fizico-chimici, predominanța unora sau altora fiind dictată de împrejurările obiective în cadrul cărora se efectuează transportul respectiv. Astfel se explică rezultatele diferite ce se pot înregistra atunci cînd se cercetează transportul diferitelor substanțe sau soluții prin plante de natură diferită sau pe plante de același fel, dar aflate în condiții biologice diferite sau în etape diferite de dezvoltare.

Se constată deci că problema modului de transport al diferitelor substanțe lichide și soluții în plante este mai complicată decît pare la prima vedere și nu poate fi redusă, în ansamblul ei, la intervenția unui singur factor, și aceasta cu atît mai mult cu cît pe lîngă factorii metabolici și fizico-chimici, un rol important revine factorilor condiționați de natura, structura și starea evolutivă și funcțională a fasciculelor și vaselor conducătoare, precum și raporturilor care se crează între substanțele ce se transportă și factorii amintiți.

Prezentată la redacție la 20 iulie 1961

Institul de biochimie
al Academiei R.P.R., București

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ И МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ ПРИ ПЕРЕДВИЖЕНИИ РАСТВОРОВ В РАСТЕНИЯХ

РЕЗЮМЕ

Авторы исследовали отношение между скоростью проникания растворов хлорамина, метиленовой сини, витамина С, сапонина, арсенита натрия и 2,4-димитрофенола, а также воды, введенной капиллярным методом в Solanum lycopersicum, Antirrhinum majus, Capsicum annuum, и потреблением кислорода (метод Варбурга) стебелями данных растений.

Было констатировано, что полученные экспериментальные данные нельзя полностью интерпретировать, исходя исключительно из физико-химических (осмотических) предпосылок, а также исходя лишь из метаболической предпосылки относительно способа передвижения веществ в растительном организме. Следовательно, вопрос передвижения воды и различных растворов в растениях более сложен, чем обычно считают; кроме физико-химических и метаболических факторов играют более или менее важную роль и факторы, зависящие от эволюционного и физиологического состояния проводящих пучков

и сосудов. Поэтому, обобщение частичных результатов, полученных в известных условиях на каком-либо биологическом материале, надо проводить с большой осторожностью.

ОБЪЯСНЕНИЕ РИСУНКОВ

Рис. 1. — Фотография стеклянной U-образно изогнутой трубки.
Рис. 2. — Схема трубки с фитилем, введенным в ствол растения.
Рис. 3. — Трубка с фитилем, введённым в ствол растения (Salvia).
Рис. 4. — Связь между иглой и нитями фитиля.

FACTEURS PHYSICO-CHIMIQUES ET MÉTABOLIQUES DU TRANSPORT DES SOLUTIONS DANS LES PLANTES

RÉSUMÉ

Les auteurs ont étudié les relations qui existent entre la vitesse de pénétration des solutions de chloramine, bleu de méthylène, vitamine C, saponine, arsénite de sodium, 2,4-dinitrophénol, y compris celle de l'eau introduite par la méthode capillaire, dans *Solanum lycopersicum*, *Anthirrhinum majus*, *Capsicum annuum*, ainsi que la consommation d'oxygène (méthode de Warburg) par les tiges des plantes respectives.

On a constaté que les résultats expérimentaux obtenus ne peuvent être interprétés d'une façon intégrale à l'aide des conceptions physico-chimiques (osmotiques) non plus qu'à l'aide de la conception métabolique concernant le mécanisme du transport des substances dans l'organisme végétal. Ceci signifie que le problème du transport de l'eau et des différentes solutions, dans les plantes, est plus compliqué qu'on ne le croit en général, car, outre les facteurs physico-chimiques et métaboliques, les facteurs qui dépendent de l'état évolutif et physiologique des vaisseaux et des faisceaux conducteurs interviennent aussi dans une certaine mesure.

Ainsi, les résultats partiels, obtenus dans certaines conditions et sur un certain matériel biologique, ne peuvent être généralisés sans réserve.

EXPLICATION DES FIGURES

Fig. 1. — Photographie d'un tube de verre recourbé en forme de U.
Fig. 2. — Schéma d'un tube avec mèche monté sur la tige d'une plante.
Fig. 3. — Tube avec mèche monté sur la tige d'une plante (sauge)
Fig. 4. — Le système de liaison entre l'aiguille et les fils qui forment la mèche.

BIBLIOGRAFIE

1. E. MÜNCH, *Die Stoffbewegungen in der Pflanze.* Jena, Fischer, 1930.
2. W. SCHUMACHER, *Untersuchungen über die Lokalisation der Stoffwanderung in den Leitbündeln höherer Pflanzen.* Jb. wiss. Bot., **73**, 770—823 (1930).
3. W. SCHUMACHER, *Untersuchungen über die Wanderung des Fluoresceins in den Siebröhren.* Jb. wiss. Bot., **77**, 685—732 (1933).
4. W. SCHUMACHER, *Zur Frage nach den Stoffbewegungen im Pflanzenkörper.* Naturwiss., **34**, 176—179 (1947).
5. T. G. MASSON, *The migration of solutes.* Bot. Rewiew, **3**, 47—71 (1937).
6. T. G. MASSON, E. J. MASKELL, E. PHILLIS, *Further studies on transport in the cotton plant. III. Concerning the independence of solute movement in the phloem.* Ann. of Bot., **50**, 23—58 (1936).
7. T. G. MASSON, E. PHILLIS, *Further studies on transport in the cotton plant. V. Oxygen supply and the activation of diffusion.* Ann. of Bot., **50**, 455—500 (1936).
8. А. Л. КУРСАНОВ, *Современная физиология растений и перспективы её развития.* Известия Академии Наук СССР, **2**, 195 (1961).
9. О. А. ПАВЛИНОВА, *Метаболизм проводящих тканей.* Известия Академии Наук СССР, Серия биологическая, **2**, 239—245 (1961).
10. T. D. LÎSENKO, *Agrobiologia.* Ed. de Stat, 1950, 398.
11. E. MACOVSCHI, *Metoda capilară pentru introducerea compușilor chimici și produșilor biologici în corpul plantelor.* Com. Acad. R.P.R., **8**, 183—187 (1958).
12. E. MACOVSCHI, *Die Verwendung der Kapillarmethode zur Einführung chemischer und biologischer Stoffe in den Pflanzenkörper.* Preslia, **30**, 252—255 (1958).
13. V. FRUNZETI, L. BUZILĂ, E. GHINEA, *Introducerea unor soluții în plante prin metoda capilară.* Studii și cercet. biochimie, *3*, 285—291 (1959).
14. E. MACOVSCHI, *Metoda capilară și aplicațiile ei în biochimia plantelor.* Volumul: *Omagiu lui Traian Săvulescu cu prilejul împlinirii a 70 de ani.* Ed. Acad. R.P.R., 1959, 1073—1076.
15. A. VESSEREAU, *Méthodes statistiques en biologie et en agronomie.* J. D. Boillière et Fils, Paris, 1948.
16. А. Л. КУРСАНОВ, М. В. ТУРКИНА, Дыхание сосудисто—волокнистых пучков. ДАН СССР, **84**, 1073—1076 (1952).
17. H. ZIEGLER, *Untersuchungen über die Leitung und Sekretion der Assimilate.* Planta, **47**, 447—500 (1956).
18. J. WILLENBRINK, *Über die Hemmung des Stofftransports in den Siebröhren durch lokale inaktivierung verschiedener Atmungsenzyme.* Planta, **48**, 269—342 (1957).

CONTRIBUȚII LA STUDIUL ENZIMOLOGIC AL APARIȚIEI FENOMENULUI DE REZISTENȚĂ BACTERIANĂ LA ANTIBIOTICE

I. CICLUL ACIZILOR TRICARBOXILICI LA *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* BCG ȘI VARIANTELE CORESPUNZĂTOARE REZISTENTE LA STREPTOMICINĂ, PAS ȘI HIDRAZIDA ACIDULUI IZONICOTINIC *)

DE

EUGENIA SORU

MEMBRU CORESPONDENT AL ACADEMIEI R.P.R.

MARIA ISTRATI, JUDITH SZABADOS, DINU TĂNĂSESCU și MARIA PARASCHIVESCU

În cadrul unui studiu mai amplu asupra modificărilor metabolice induse de către streptomicină, PAS și hidrazida acidului izonicotinic prin crearea rezistenței față de aceste antibiotice la *Mycobacterium tuberculosis* BCG [1], [2], [3], [4] lucrarea de față relatează cercetările comparative ale ciclului acizilor tricarboxilici la o tulpină BCG sensibilă la antibiotice, precum și la variantele sale obținute rezistente prin suplimentarea mediului său de cultură cu cantități crescînde ale antibioticului respectiv. Cercetări anterioare [5] au pus în evidență prezența ciclului acizilor tricarboxilici la *Mycobacterium tuberculosis* și unele lucrări se ocupă cu influența hidrazidei acidului izonicotinic (INH) asupra acestui ciclu [6].

Problema unui mecanism de acțiune specific fiecărui antibiotic cu efect antituberculos impune însă o cercetare comparativă a influenței acestor antibiotice asupra diferitelor căi de metabolizare, printre care

*) Lucrare comunicată la Congresul internațional de biochimie de la Moscova, august, 1961.

una din cele mai importante este fără îndoială calea ciclului acizilor tricarboxilici. Studiul acestui ciclu a fost făcut de noi prin următoarele căi de cercetare :

1) Determinarea consumului de oxigen în prezenţa componentelor ciclului acizilor tricarboxilici ca substrat.

2) Determinarea directă a cetoacizilor şi acizilor di- şi tricarboxilici participanţi ai ciclului.

3) Controlul prezenţei enzimelor care catalizează diferitele etape ale ciclului.

MATERIAL ŞI METODE

Tulpinile cercetate sînt tulpina *Mycobacterium tuberculosis* BCG sensibilă la antibioticele streptomicină, PAS şi INH (tulpină folosită în Secţia BCG a Institutului „Dr. I. Cantacuzino" pentru prepararea vaccinului BCG), tulpina BCG streptomicino-rezistentă (1000 γ/ml),tulpina BCG PAS-rezistentă (500 γ/ml) şi tulpina BCG INH-rezistentă (250 γ/ml). Tulpinile rezistente au fost obţinute din tulpina BCG-sensibilă prin suplimentarea mediului său de cultură (mediu Sauton) cu cantităţi crescînde ale antibioticului respectiv. Tulpinile devenite rezistente se menţin pentru păstrarea în culturi pe mediu Sauton suplimentat cu antibiotic. Germenii folosiţi direct în experienţele noastre se obţin prin trecerea culturilor de mai sus în mediu Sauton fără antibiotic. Se cercetează germenii corespunzători culturilor de 7, 14 şi 19 zile, procesele metabolice variind în foarte largă măsură cu faza ciclului de creştere. Se lucrează cu germenii debarasaţi de mediul de cultură prin spălări succesive cu apă bidistilată („resting bacteria").

Consumul de oxigen e determinat cu aparatul Warburg (37°C), 1 ml suspensie de germeni în tampon fosfat (pH 7,3 M/15), conţinînd 20 mg/ml (exprimat în reziduu uscat), se introduce în cupele Warburg şi se adaugă ca substrate diferitele componente ale ciclului acizilor tricarboxilici. Se pun concomitent sisteme martor fără substrat pentru determinarea respiraţiei endogene. Se determină consumul de oxigen la intervale de 10 min, timp de 60 min. Se exprimă rezultatele în valori ale raportului : QO_2 (substrat)/QO_2 (endogen), unde QO_2=μl O_2/min/g germeni (greutate uscată). Valorile supraunitare indică capacitatea de oxidare a substratului respectiv, iar valorile subunitare arată o acţiune de inhibare a respiraţiei endogene de către acest substrat. S-au efectuat determinări ale consumului de oxigen şi pe sistemele acelulare corespunzător culturilor de 10 zile. Sistemele acelulare sînt obţinute sub acţiunea dezoxicolatului de sodiu. Germenii sînt suspendaţi în soluţie de dezoxicolat de sodiu (0,5%), zaharoză (0,25 M) şi omogenizaţi în omogeneizator de sticlă (tip Potter). Omogenatul este supus centrifugărilor fracţionate. Se îndepărtează fracţiunea care se depune la 800 ture/min. Supernatantul este supus unei noi centrifugări. Se lucrează cu fracţiunea care se depune la 12000 t/m şi în care controlul microscopic indică o disrupţie celulară completă.

Cetoacizii participanți ai ciclului tricarboxilic, acidul α-cetoglutaric și oxalacetic sînt determinați în sistemele de incubare (60′ la 37°) după deproteinizare cu acid tungstic. Cetoacizii sînt transformați în cetoacid-fenilhidrazone [7] cu 2, 4 dinitrofenilhidrazină în soluție de acid clorhidric 2N. Cetoacid-dinitrofenilhidrazonele, de culoare galbenă, sînt supuse unor extracții succesive cu acetat de etil. Reziduul extractelor evaporate, reluat în cloroform amoniacal, este supus separării prin electroforeză pe hîrtie (Whatman nr. 1) [8] în tampon Na-veronal-veronal (pH 8,6 ; $\mu = 0{,}1$) V = 320. După 40 min se realizează o bună separare a cetoacid-fenilhidrazonelor oxalacetice, α-cetoglutarice și piruvice. Benzile colorate sînt supuse eluției în soluție de carbonat de sodiu 10%. Eluatul este fotometrat (filtru 600 mμ) față de soluții martor ale cetoacizilor autentici, prelucrați concomitent.

Acizii di- și tricarboxilici participanți ai ciclului se determină în sistemele de incubare cu substratele respective după oprirea reacției prin adaos de acid sulfuric N/1. În supernatantul de centrifugare se separă acizii prin cromatografie pe coloană (8 × 150 mm) de rășină schimbătoare de ioni Amberlit IR 400 (ciclul formiat) [9]. Eluatele în 50 ml acid formic 6 N (viteza de curgere 1 ml/min) sînt evaporate la uscare și reziduul este supus cromatografiei pe hîrtie de filtru Whatman nr. 1 [10] în sistemul butanol : acid acetic : apă (4 : 1 : 5) concomitent cu acizii carboxilici autentici. După 18 ore de developare, hîrtia este scoasă și lăsată să se usuce complet la temperatura camerei și apoi o oră la 70°C. Se pulverizează pentru identificarea acizilor cu o soluție conținînd 2 g glucoză, 20 ml apă, 2 ml anilină (proaspăt distilată), 60 ml n-butanol. Se usucă 10 min la 70°C ; apar pete brune ; fragmentele colorate sînt decupate și eluate în acid acetic glacial la cald (10 min la 100°C). Eluatele se fotometrează cu filtrul 460 mμ.

Enzimele ciclului tricarboxilic sînt controlate pe celulele intacte și comparativ pe sisteme acelulare.

Enzima de condensare se controlează prin determinarea acidului citric [11] în prezența acidului oxalacetic ca substrat. Sistemul de incubare mai conține acetilfosfați, coenzima A și o transacetilază izolată din *Escherichia Coli* [12].

Aconitaza este controlată prin formarea acidului citric, folosind acidul *cis*-aconitic ca substrat [13].

Izocitricdehidrogenaza se pune în evidență prin reducerea TPN^+ în prezența acidului izocitric ca substrat [14] și determinarea densității optice.

α-Cetoglutaratdehidrogenaza este controlată prin reducerea DPN^+ în prezența acidului α-cetoglutaric ca substrat, a coenzimei A și L-cisteinei [15] și determinarea densității optice.

Acid succinicdehidrogenaza se determină prin reducerea clorurii de trifeniltetrazoliu la formazan, în prezența acidului succinic ca substrat. Se lucrează în anaerobioză parțială (Thunberg).

Fumaraza e determinată prin creșterea densității optice la 240 mμ în prezența acidului malic ca substrat [16].

Malicodehidrogenaza se controlează prin reducerea DPN^+ la DPN^{2+} în prezența acidului malic [12].

REZULTATE

Oxidarea componentelor ciclului acizilor tricarboxilici

Sînt oxidaţi de către celulele intacte ale tuturor variantelor şi în toate fazele lor de creştere (germeni corespunzători culturilor de 7, 14 şi 19 zile) acizii piruvic, oxalacetic şi succinic. Figura 1 *a*, *b*, *c* redă intensitatea de oxidare exprimată prin raportul valorilor QO_2 (μlO_2/germeni/min) în prezenţa şi absenţa substratului respectiv. Capacitatea de oxidare variază cu substratul şi cu varianta microbiană şi pentru fiecare variantă cu faza sa de creştere.

Acidul piruvic (fig. 1 *a*) este intens oxidat de culturile tinere (culturi de 7 zile) ale variantei streptomicino-rezistente, mult mai slab oxidat de către culturile tinere ale celorlalte variante şi în special ale formei sensibile de origine. Capacitatea de oxidare a acidului piruvic de către varianta streptomicino-rezistentă scade însă extrem de mult la germenii aflaţi la sfîrşitul fazei lor exponenţiale şi în faza staţionară (culturi de 19 zile). O comportare analoagă de descreştere a capacităţii de oxidare cu vîrsta culturilor o prezintă şi varianta INH-rezistentă, dar nu varianta PAS-rezistentă şi forma sensibilă de origine care păstrează aproximativ aceeaşi capacitate de oxidare a acidului piruvic în toate fazele de creştere.

Acidul oxalacetic (fig. 1 *b*) este oxidat de către celulele tinere ale tuturor variantelor cu aceeaşi intensitate, este oxidat însă mai intens de variantele PAS-rezistentă şi INH-rezistentă, aflate la sfîrşitul fazei lor exponenţiale (culturi de 14 zile), intens de variantele streptomicino-rezistentă şi PAS-rezistentă şi foarte slab în această fază de către varianta INH-rezistentă şi forma sensibilă de origine.

Acidul succinic (fig. 1 *c*) este mult mai intens oxidat de către celulele aflate la sfîrşitul fazei lor exponenţiale şi staţionare ale variantei PAS-rezistente decît de către celelalte variante. Urmează cu o capacitate de oxidare mult mai redusă varianta INH-rezistentă şi în special forma sensibilă de origine şi varianta streptomicino-rezistentă, ale căror celule în faza staţionară nu oxidează de loc succinatul. Rezistenţa faţă de PAS este astfel întovărăşită de o intensificare a capacităţii de oxidare a piruvatului, oxalacetatului şi succinatului. Sistemele acelulare corespunzătoare, obţinute cu tehnica descrisă, oxidează mult mai slab aceste substrate şi în special acidul succinic.

Acidul citric nu este oxidat de către celulele intacte ale nici unei variante; această componentă, dimpotrivă, inhibă net respiraţia endogenă, cea mai intensă inhibare fiind exercitată asupra variantei INH-rezistentă. Celulele disrupte oxidează însă acidul citric (fig. 2), ceea ce indică, ca şi pentru alte celule microbiene [17], incapacitatea trecerii prin membrană celulară a acestui substrat, pentru a realiza contactul cu enzima specifică.

Acidul izocitric este oxidat net numai de celulele variantei streptomicino-rezistente, aflate în fază staţionară, şi este foarte slab oxidat de către varianta INH-rezistentă. Inhibă oxidarea endogenă a variantei

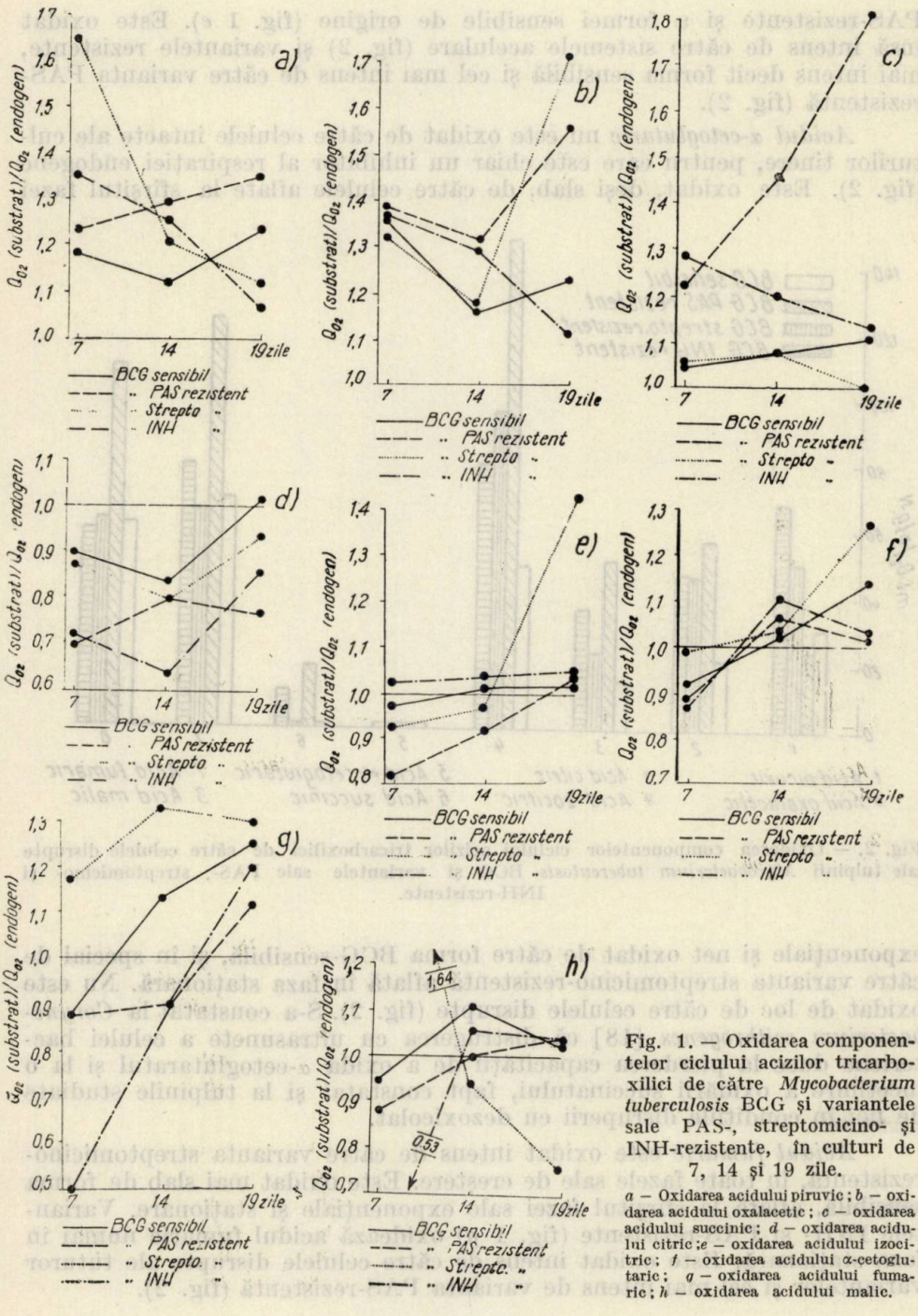


Fig. 1. — Oxidarea componentelor ciclului acizilor tricarboxilici de către *Mycobacterium tuberculosis* BCG şi variantele sale PAS-, streptomicino- şi INH-rezistente, în culturi de 7, 14 şi 19 zile.

a — Oxidarea acidului piruvic; *b* — oxidarea acidului oxalacetic; *c* — oxidarea acidului succinic; *d* — oxidarea acidului citric; *e* — oxidarea acidului izocitric; *f* — oxidarea acidului α-cetoglutaric; *g* — oxidarea acidului fumaric; *h* — oxidarea acidului malic.

PAS-rezistente şi a formei sensibile de origine (fig. 1 *e*). Este oxidat însă intens de către sistemele acelulare (fig. 2) şi variantele rezistente, mai intens decît forma sensibilă şi cel mai intens de către varianta PAS-rezistentă (fig. 2).

Acidul α-cetoglutaric nu este oxidat de către celulele intacte ale culturilor tinere, pentru care este chiar un inhibitor al respiraţiei endogene (fig. 2). Este oxidat, deşi slab, de către celulele aflate la sfîrşitul fazei

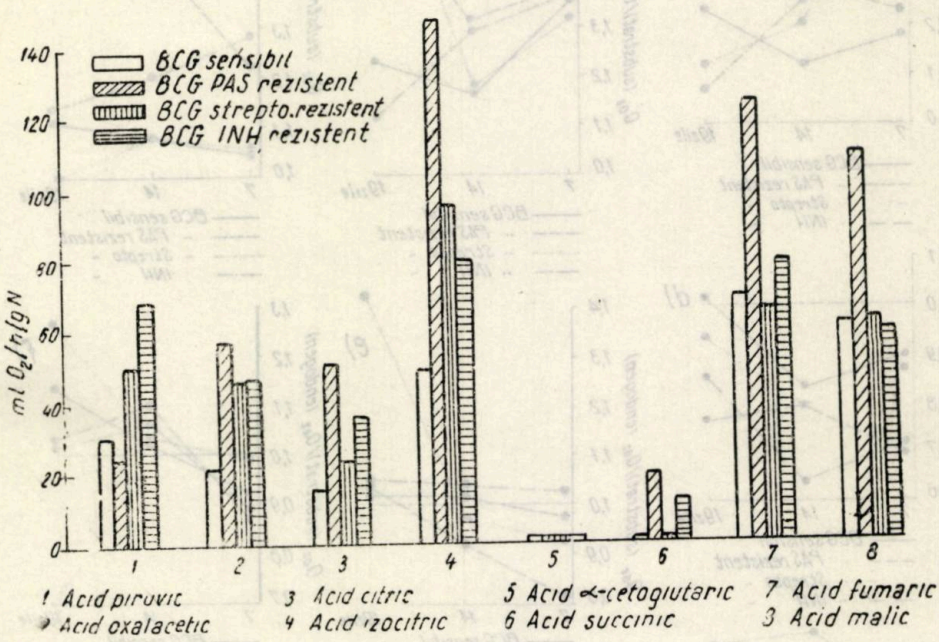


Fig. 2. — Oxidarea componentelor ciclului acizilor tricarboxilici de către celulele disrupte ale tulpinii *Mycobacterium tuberculosis* BCG şi variantele sale PAS-, streptomicino- şi INH-rezistente.

exponenţiale şi net oxidat de către forma BCG-sensibilă, şi în special de către varianta streptomicino-rezistentă aflată în faza staţionară. Nu este oxidat de loc de către celulele disrupte (fig. 2). S-a constatat la *Corynebacterium erithrogenes* [18] că distrugerea cu ultrasunete a celulei bacteriene duce la pierderea capacităţii de a oxida α-cetoglutaratul şi la o încetinire a oxidării succinatului, fapt constatat şi la tulpinile studiate de noi în condiţiile disruperii cu dezoxicolat.

Acidul fumaric este oxidat intens de către varianta streptomicino-rezistentă, în toate fazele sale de creştere. Este oxidat mai slab de forma sensibilă, aflată la sfîrşitul fazei sale exponenţiale şi staţionare. Variantele INH- şi PAS-rezistente (fig. 1 *g*) oxidează acidul fumaric numai în faza staţionară. Este oxidat intens de către celulele disrupte ale tuturor variantelor şi cel mai intens de varianta PAS-rezistentă (fig. 2).

Acidul malic este foarte intens oxidat de către celulele intacte ale variantei streptomicino-rezistente, aflate la începutul fazei exponențiale, dar este un inhibitor al oxidației endogene a celulelor aflate la sfîrșitul fazei exponențiale și în faza staționară. Forma sensibilă oxidează malatul și în special de celulele aflate la sfîrșitul fazei sale exponențiale. Sistemele celulare disrupte oxidează intens această componentă (fig. 2) și cel mai intens varianta PAS-rezistentă. Este de remarcat că varianta PAS-rezistentă oxidează cel mai intens diferitele substrate și că sistemele acelulare ale acestei variante au o capacitate de oxidare mult mai intensă decît celulele intacte corespunzătoare. Rezistența la PAS apare astfel întovărășită de o intensificare a capacității de oxidare a ciclului acizilor tricarboxilici. Determinarea directă a cetoacizilor și a acizilor carboxilici (di- și tetracarboxilici) procură date care se suprapun cu acelea obținute în determinarea activității enzimelor care generează aceste substrate.

Enzimele participante în diferitele etape ale ciclului

Enzima de condensare are o activitate extrem de redusă la varianta streptomicino-rezistentă, ceea ce ar indica la acest nivel o acțiune analogă cu aceea semnalată pentru streptomicină și la alte microorganisme [19], [20] (fig. 3 *a*). Variantele PAS-rezistentă, INH-rezistentă și forma sensibilă de origine au o netă activitate la sfîrșitul fazei lor exponențiale de creștere, ceva mai slabă în faza staționară și foarte scăzută la începutul fazei lor exponențiale.

Aconitaza are o activitate scăzută la începutul fazei exponențiale pentru toate variantele, dar netă la sfîrșitul fazei exponențiale și în special în faza staționară. Activitatea cea mai netă o prezintă varianta PAS-rezistentă și varianta sensibilă de origine (fig. 3 *b*).

Izocitricdehidrogenaza este mai activă la variantele rezistente la antibiotice decît la tulpina sensibilă, cu excepția variantei streptomicino-rezistente, care la începutul fazei exponențiale are o activitate extrem de scăzută (fig. 3 *c*). Activitate mai intensă posedă varianta PAS-rezistentă.

α-Cetoglutaratdehidrogenaza are o activitate foarte slabă pentru toate variantele (fig. 3 *d*).

Acid succinicdehidrogenaza este foarte activă la tulpina sensibilă și varianta PAS-rezistentă; este foarte slab activă la variantele rezistente la INH (fig. 3 *e*).

Fumaraza este cel mai slab activă la varianta INH-rezistentă și cel mai intens activă la varianta streptomicino-rezistentă. În sistemele acelulare cea mai intensă activitate fumarazică o posedă varianta PAS-rezistentă, varianta INH-rezistentă păstrîndu-și o activitate foarte scăzută și în aceste condiții (fig. 3 f_1, f_2).

Malicdehidrogenaza variantei streptomicino-rezistente are o activitate optimă la sfîrșitul fazei exponențiale de creștere a acestei tulpini. Variantele INH- și PAS-rezistente au o activitate mai slabă decît tulpina

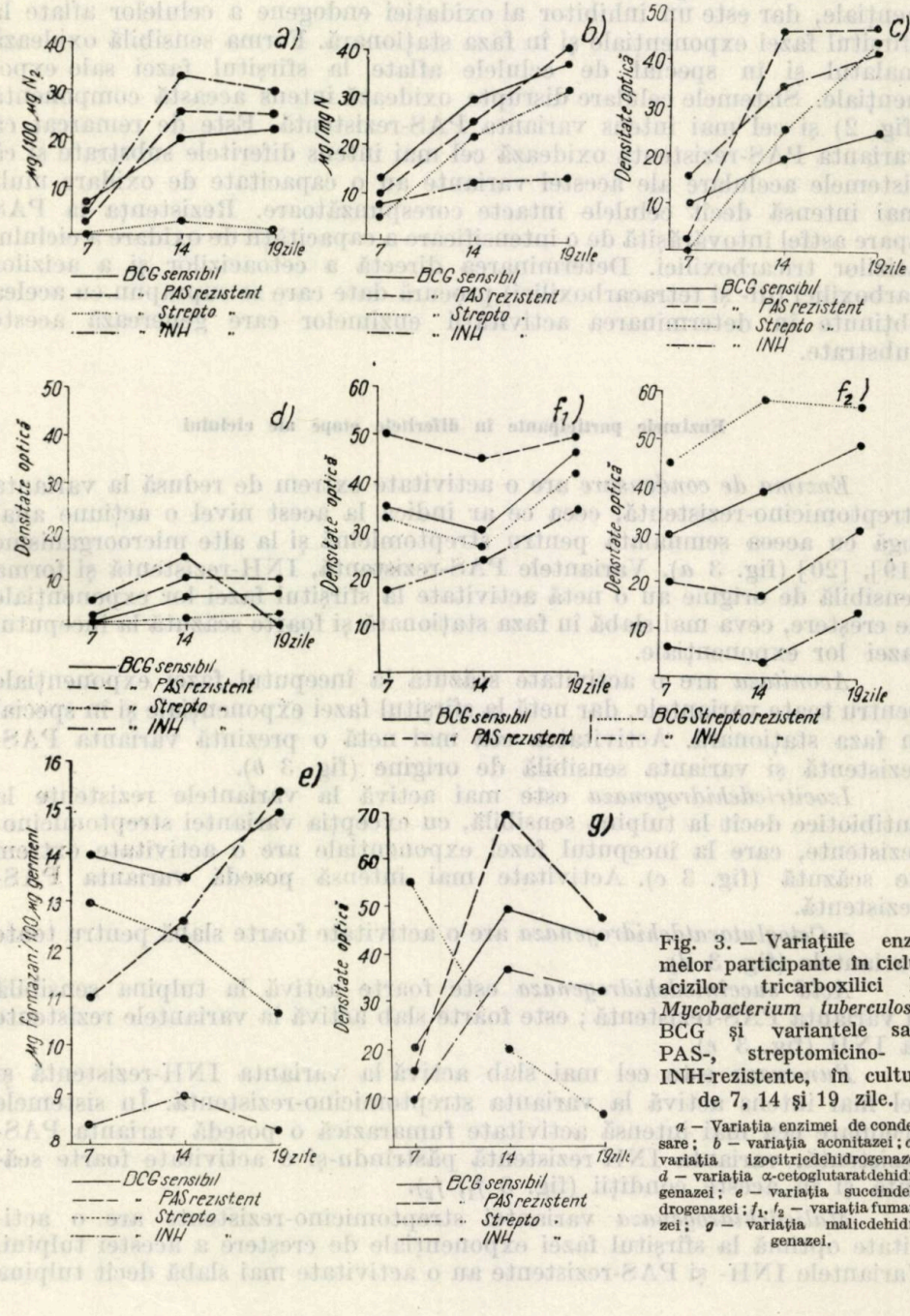


Fig. 3. — Variațiile enzimelor participante în ciclul acizilor tricarboxilici la *Mycobacterium tuberculosis* BCG și variantele sale PAS-, streptomicino- și INH-rezistente, în culturi de 7, 14 și 19 zile.

a — Variația enzimei de condensare; *b* — variația aconitazei; *c* — variația izocitricdehidrogenazei; *d* — variația α-cetoglutaratdehidrogenazei; *e* — variația succindehidrogenazei; f_1, f_2 — variația fumarazei; *g* — variația malicdehidrogenazei.

sensibilă. În extractele acelulare activitatea cea mai intensă o posedă varianta PAS-rezistentă (fig. 3 *g*).

CONCLUZII

Ciclul acizilor tricarboxilici, una din căile majore de oxidare terminală, a fost cercetat la *Mycobacterium tuberculosis* BCG şi comparativ la variantele sale obţinute rezistente prin suplimentarea mediului său de cultură (mediu Sauton) cu concentraţii crescînde ale antibioticului respectiv, streptomicină (1000 γ/ml), PAS (500 γ/ml) şi INH (250 γ/ml). Studiul acestui ciclu de oxidare a fost urmărit prin următoarele căi de control :

1) Punerea în evidenţă a enzimelor specifice fiecăreia din etapele ciclului.

2) Determinarea consumului de oxigen în prezenţa componentelor ciclului ca substrat (aparat Warburg) ; consumul de oxigen este urmărit atît în celulele intacte cît şi în sistemele acelulare.

3) Determinarea cetoacizilor şi a acizilor di- şi tricarboxilici componenţi ai ciclului. Cetoacizii transformaţi în cetoacid-dinitrofenilhidrazone sînt separaţi prin electroforeză pe hîrtie şi dozaţi fotometric. Acizii di- şi tricarboxilici sînt separaţi pe coloană de Amberlite IRA-400, identificaţi prin cromatografie pe hîrtie şi dozaţi fotometric.

Rezultatele obţinute prin aceste căi de control arată că instalarea rezistenţei faţă de antibioticele menţionate este însoţită de o modificare evidentă a metabolizării pe calea ciclului acizilor tricarboxilici. Modificările sînt funcţie de fiecare din etapele ciclului de antibioticul faţă de care s-a indus rezistenţa, precum şi de faza de creştere a variantei respective.

Acizii piruvic, oxalacetic şi succinic sînt oxidaţi de către celulele intacte şi sistemele acelulare ale tuturor variantelor în toate fazele lor de creştere. Intensitatea de oxidare este diferită pentru diversele variante. Acidul citric nu este oxidat de către celulele intacte, pentru care constituie chiar un inhibitor al respiraţiei lor endogene. Acidul citric este însă oxidat de către sistemele acelulare corespunzătoare ; este oxidat cel mai intens de către varianta PAS-rezistentă. Acidul izocitric de asemenea nu este oxidat de către celulele intacte, cu excepţia variantei streptomicino-rezistente aflată în faza staţionară ; este însă oxidat de către sistemele acelulare. Acidul α-cetoglutaric este oxidat de către celulele intacte ale variantei sensibile de origine ; nu este oxidat de către sistemele acelulare ale nici uneia din variante. Acidul fumaric este oxidat de către varianta streptomicino-rezistentă în toate fazele sale de creştere, iar de către celelalte variante numai în faza lor staţionară. Acidul malic este oxidat intens de către varianta streptomicino-rezistentă aflată la sfîrşitul fazei sale de creştere exponenţială şi mult mai slab de către celelalte variante. Sistemele acelulare ale variantei PAS-rezistente oxidează componentele ciclului acizilor tricarboxilici mai intens decît toate celelalte variante. Varianta streptomicino-rezistentă prezintă o inhibare marcată a etapei catalizate de către enzima de condensare, varianta INH-rezistentă o inhibare netă

a etapei catalizate de către succindehidrogenază, variantele PAS- şi INH-rezistente o inhibare a etapei catalizate de către fumarază.

Datele experimentale obţinute în studiul ciclului acizilor tricarboxilici indică, în afară de o localizare mai evidentă în anumite etape a acţiunii fiecărui antibiotic, o dereglare intercorelată şi complexă a tuturor etapelor acestui ciclu.

Prezentată la redacţie la 3 iulie 1961

Institutul „Dr. I. Canlacuzino", Secţia biochimie generală şi imunochimie şi secţia BCG

К ВОПРОСУ ОБ ЭНЗИМАТИЧЕСКОМ ИССЛЕДОВАНИИ ЯВЛЕНИЯ РЕЗИСТЕНТНОСТИ БАКТЕРИЙ К АНТИБИОТИКАМ

I. ЦИКЛ ТРИКАРБОКСИЛЬНЫХ КИСЛОТ У MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS BCG И ЕГО РАЗНОВИДНОСТЕЙ, РЕЗИСТЕНТНЫХ ПО ОТНОШЕНИЮ К СТРЕПТОМИЦИНУ, ПАС И ГИН

РЕЗЮМЕ

Авторы исследовали у Mycobacterium tuberculosis BCG и ее разновидностей, резистентных по отношению к стрептомицину (100γ/мл) и, соответственно, по отношению к ПАС (500 γ /мл) и ГИН (250γ/мл), цикл трикарбоксиловых кислот, являющихся продуктами конечного окисления различных метаболитов.

Сравнительное исследование цикла трикарбоксиловых кислот производилось следующим образом: 1) выявление энзим, специфических для каждото этапа цикла; 2) определение потребления кислорода, используя в виде субстрата различные компоненты цикла. Определение потребления кислорода было выполнено как на клеточных системах, так и на целостных клетках; 3) определение кетокислот, участвующих в цикле (превращение в кетокислоту динитрофенилгидразонов, их электрофоретическое разделение, эллюирование и фотометрическое определение); 4) определение органических кислот (дву- и трехосновных), участвующих в цикле (разделение на ионообменной колонке, идентифицирование и определение хромотографическим путем на фильтровальной бумаге).

Результаты, полученные указанными различными путями контроля, показывают, что появление резистентности по отношению к исследованным антибиотикам сопровождается изменением обмена по циклу трикарбоксильной кислоты. Изменение зависит от каждого этапа цикла, от антибиотика, по отношению к которому появляется резистентность, а также от фазы роста соответствующей разновидности.

ОБЪЯСНЕНИЕ РИСУНКОВ

Рис. 1. — Окисление компонентов цикла трикарбоксильных кислот Mycobacterium tuberculosis и ее разновидностей, резистентных по отношению к ПАС, стрептомицину и ГИН в 7, 14 и 19-дневных культурах.

a — Окисление пировиноградной кислоты; *b* — Окисление щавелевоуксусной кислоты; *c* — Окисление янтарной кислоты; *d* — Окисление лимонной кислоты; *e* — Окисление изолимонной кислоты; *f* — Окисление α-кетоглутаровой кислоты; *g* — Окисление фумаровой кислоты; *h* — Окисление яблочной кислоты.

Рис. 2. — Окисление компонентов цикла трикарбоксиловых кислот отдельными клетками штамма Mycobacterium tuberculosis BCG и ее разновидностей, резистентных по отношению к ПАС, стрептомицину и ГИН.

Рис. 3. — Изменение энзимов, участвующих в цикле трикарбоксильных кислот у Mycobacterium tuberculosis BCG и ее разновидностей, резистентных по отношению к ПАС, стрептомицину и ГИН в 7, 14 и 19-дневных культурах.

a — Изменение энзима конденсации; *b* — Изменение аконитазы; *c* — Изменение изоцитрикодеглидрогеназы; *d* — Изменение α-кетоглутаратдегидрогеназы; *e* — Изменение сукциндегидрогеназы; $f_1 f_2$ — Изменение фумаразы; *g* — Изменение маликодегидрогеназы.

CONTRIBUTION À L'ÉTUDE ENZYMOLOGIQUE DE L'APPARITION DU PHÉNOMÈNE DE RÉSISTANCE BACTÉRIENNE AUX ANTIBIOTIQUES

I. LE CYCLE DES ACIDES TRICARBOXYLIQUES CHEZ *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* BCG ET CHEZ SES VARIANTES RÉSISTANTES À LA STREPTOMYCINE, AU PAS ET À L'HYDRAZIDE DE L'ACIDE ISONICOTINIQUE

RÉSUMÉ

Les auteurs ont étudié, chez *Mycobacterium tuberculosis* BCG et chez ses variantes résistantes à la streptomycine (100 μg/ml) et, respectivement, au PAS (500 μg/ml) et à l'isoniazide (250 μg/ml), le cycle des acides tricarboxyliques constituant la voie d'oxydation terminale des différents métabolites.

L'étude comparative du cycle des acides tricarboxyliques a été effectuée comme suit : 1° mise en évidence des enzymes spécifiques, pour chaque étape du cycle ; 2° détermination de la consommation d'oxygène, en utilisant comme substratum les différents composants du cycle, la consommation d'oxygène étant déterminée tant sur des systèmes acellulaires que sur des cellules intactes ; 3° détermination des céto-acides participant au cycle (transformation en céto-acide-dinitrophénylhydrazone ; séparation électrophorétique ; élution et dosage photométrique) ; 4° détermination des acides organiques (di- et triacides) participant au cycle (séparation sur colonne d'échange ionique, identification et dosage par chromatographie sur papier-filtre).

Les résultats obtenus par ces différentes voies de contrôle indiquent que l'installation de la résistance aux antibiotiques étudiés s'accompagne de modifications du métabolisme, suivant la voie du cycle des acides tricarboxyliques. Ces modifications sont en fonction de chacune des étapes du cycle, de l'antibiotique auquel la résistance a été induite ainsi que de la phase de croissance de la variante respective.

EXPLICATION DES FIGURES

Fig. 1. — Oxydation des éléments du cycle des acides tricarboxyliques par *Mycobacterium tuberculosis* BCG et ses variantes PAS-, strepto- et isoniazido-résistantes, en cultures de 7, 14 et 19 jours.

a — Oxydation de l'acide pyruvique ; *b* — oxydation de l'acide oxalo-acétique ; *c* — oxydation de l'acide succinique ; *d* — oxydation de l'acide citrique ; *e* — oxydation de l'acide isocitrique ; *f* — oxydation de l'acide α-céto-glutarique ; *g* — oxydation de l'acide fumarique ; *h* — oxydation de l'acide malique.

Fig. 2. — Oxydation des éléments du cycle des acides tricarboxyliques par les cellules provenant de la souche de *Mycobacterium tuberculosis* BCG et de ses variantes PAS-, strepto- et isoniazido-résistantes.

Fig. 3. — Variations des enzymes participant au cycle des acides tricarboxyliques chez *Mycobacterium tuberculosis* BCG et chez ses variantes PAS-, strepto- et isoniazido-résistantes, en cultures de 7, 14 et 19 jours.

a — Variations de l'enzyme de condensation ; *b* — variations de l'aconitase ; *c* — variations de l'isocitrico-déshydrogénase ; *d* — variations de l' α-cétoglutarate-déshydrogénase ; *e* — variations de la succine-déshydrogénase ; f_1, f_2 — variations de la fumarase ; *g* — variations de la malico-déshydrogénase.

BIBLIOGRAFIE

1. E. Soru, M. Istrati, M. Paraschivescu , Naturwiss., **45**, 578 (1958).
2. E. Soru, M. Istrati, M. Paraschivescu, Naturwiss., **47**, 237 (1960).
3. E. Soru, M. Istrati, J. Sculptoreanu, M. Paraschivescu, Arch. roum. de Pathol. Expér., **19**, *2*, 189 (1960).
4. E. Soru, D. Tănăsescu, M. Paraschivescu, Studii şi cercet. biochim., **IV**, *1*, 23 (1961).
5. J. Millman, Guy P. Youmans, J. of bacteriol., **69**, 320 (1955).
6. M. Nasta, E. Păunescu, Studii şi cercet. inframicrobiol., microbiol. şi parazitol., **IX**, 471 (1958).
7. W. J. P. Neish, în *Methods of Biochemical Analysis*, Ed. David Glick, Interscience Publishers New York, 1957, 109.
8. H. Tauber, Analy. chem., **27**, 287 (1955).
9. C. Nordmann şi colaboratori, Bull. Soc. Chim. Biol., **36**, *10*, 11 (1954).
10. J. Charles, Bull. Soc. Chim. Biol., **40**, 221 (1958).
11. S. Natelson, J. B. Pincus, J. K. Lugovoy, J. biol. chem., **175**, 745 (1948).
12. S. Ochoa, în *Methods in Enzymology*, Ed. Sidney P. Colowick a. Nathan O. Kaplan, Acad. Press. Inc. Publishers, New York, 1955, **I**, 685, 735.
13. C. B. Anfinsen, în *Methods in Enzymology*, Ed. Sidney P. Colowick a. Nathan O. Kaplan, Acad. Press. Inc. Publishers, New York, 1955, **I**, 695.
14. S. Ochoa, în *The Enzymes*, Ed. J. B. Sumner a K. Myrbäck, Acad. Press. Inc. Publishers, New York, 1951, **II**, partea a 2-a, 929.
15. S. Kaufman, în *Methods in Enzymology*, Ed. Sidney P. Colowick a. Nathan O. Kaplan, Acad. Press. Inc. Publishers, New York, 1955, **I**, 714.

16. W. D. Bonner, în *Methods in Enzymology*, Ed. Sidney P. Colowick a. Nathan O. Kaplan, Acad. Press. Inc. Publishers, New York, 1955, **I**, 722.
17. H. Y. Gaz, L. O. Krampitz, J. Bacteriol., **67**, 409 (1954).
18. R. G. Tucker, J. gen. microbiol., **23**, 267 (1960).
19. W. W. Umbreit şi colaboratori, J. Bacteriol., **58**, 747 (1949).
20. Г. Ф. Гаузе, *О механизме действия антибиотиков*, Лекции по антибиотике, Москва, Медгиз, 1959.

ACȚIUNEA UNUI FLUX RADIANT COMPLEX ASUPRA FOSFOMONOESTERAZEI ERITROCITARE

DE

L. M. BURUIANĂ, EL. HADARAG, A. DEMA și I. DEMA

Cercetarea influenței diferitelor radiații asupra activității enzimatice prezintă interes din două puncte de vedere :

1. pentru stabilirea modului lor de acțiune asupra organismelor vii și
2. pentru găsirea unor metode mai exacte de dozare a efectului radiobiologic.

Studiile efectuate în acest scop se pot grupa în 3 categorii, după metodica experimentării. Din prima categorie fac parte cercetările asupra enzimelor din țesuturile vii, din a doua cele asupra enzimelor purificate și din ultima acelea efectuate asupra enzimelor din lichidele intra sau extracelulare. Cele din prima categorie corespund mai bine scopului de a preciza efectul radiațiilor *in vivo*, iar cele din ultima găsirii unui criteriu practic de apreciere și dozare a efectului radiobiologic. Cercetările făcute pînă în prezent arată că efectul radiațiilor asupra activității enzimatice *in vivo* este relativ redus în comparație cu acela asupra enzimelor *in vitro* [4], [5]. Efectul mai depinde de modul de acțiune și de natura radiațiilor. El este mai redus în cazul acțiunii indirecte decît al acțiunii directe și mai puternic în cazul radiațiilor energetice decît al celor corpusculare.

Există relativ puține cercetări cu privire la efectul radiobiologic al neutronilor, rezultatele fiind uneori contradictorii, datorită desigur reacțiilor secundare care se produc. Obținerea unor fluxuri omogene de neutroni este încă o problemă dificilă. De obicei, în practică se recurge la fluxuri eterogene, bogate în neutroni rapizi, furnizate de reactorii atomici. În lucrarea de față s-a experimentat cu un astfel de flux, pentru a se cerceta efectul asupra activității fosfomonoesterazei acide care ia parte activă la metabolismul energetic al globulei roșii.

METODĂ ȘI MATERIAL DE LUCRU

Soluțiile enzimatice se obțineau din eritrocitele unor animale considerate ca sănătoase din punct de vedere clinic, cu tehnica descrisă anterior [1]. Ele erau expuse un timp variabil fluxului neutronilor din canalele

biologice ale reactorului I.F.A. Componența și intensitatea erau următoarele:

neutroni termici	$2{,}3 \times 10^7/cm^2/s$
neutroni epitermici	$7{,}1 \times 10^5/cm^2/s$
neutroni rapizi	$4{,}0 \times 10^7/cm^2/s$
fond gama	0,06 r/s.

Deoarece efectul neutronilor lenți se datorește captării lor de către unii atomi și radioactivității artificiale care rezultă, este puțin probabil ca efectul lor radiobiologic să fie apreciabil. Preponderentă este acțiunea neutronilor rapizi. Prin eliminarea protonilor din nucleele lovite se produc modificări de structură ale macromoleculelor și, implicit se modifică activitatea enzimatică.

Radiațiile energetice care constituie fondul gama al fluxului utilizat de noi nu afectează prea mult activitatea fosfomonoesterazei eritrocitare (FME), după cum s-a constatat (rezultate încă nepublicate). Faptul este explicabil, deoarece FME nu este o tiol-enzimă. În cazul nostru radiațiile energetice asociate cu cele corpusculare contribuie în oarecare măsură la producerea modificărilor constatate. Determinarea activității FME s-a făcut prin dozarea fosfatului eliberat în urma hidrolizei α-glicerofosfatului. Condițiile de lucru erau aceleași ca în cercetările anterioare [1], [2]. Deoarece activitatea enzimelor depinde de natura complexului enzimă-substrat, rezultă că modificarea lor se poate urmări determinînd afinitatea dintre enzimă și substrat sau inversul ei, constanta Michaelis (K_m). În cazul de față operația s-a făcut, înainte și după iradiere, cu metoda grafică a lui H. Lineweaver și D. Burk [6]. Această metodă are avantajul că precizează și natura schimbărilor produse. S-au trasat de asemenea curbele gradientului termic (dreptele Arrhenius), cu ajutorul cărora s-a calculat valoarea energiei de activare a FME înainte și după iradiere.

REZULTATELE OBȚINUTE

I. *Cazul fosfomonoesterazei din eritrocitele de cal.* Efectul începe să fie resimțit chiar după 5 min de expunere la acțiunea fluxului radiant. El se accentuează treptat, cu cît expunerea se prelungește. În tabelele 1 și 2 sînt trecute rezultatele obținute în cazul a două soluții enzimatice cu activitate diferită.

Tabela 1

Variația activității FME cu concentrația substratului

Eritrocite de cal

Concentrația glicerofosfatului g%	S*) mol/l	$1/S.10^{-1}$	V**) g%	$1/V$	V_{60}***) g%	$1/V_{60}$
1,25	0,0578	1,73	0,186	5,37	0,150	6,41
0,75	0,0347	2,88	0,132	7,57	0,100	10,00
0,50	0,0231	4,32	0,102	9,80	0,0674	14,90
0,25	0,0166	8,62	0,050	20,00	0,0342	29,20

*) S – concentrația substratului.

**) V – viteza de hidroliză înainte de iradiere. în grame de fosfor eliberat de 100 ml eritrocite, după o incubație de o oră la 37°C.

***) V_{60} – viteza de hidroliză după iradierea soluției enzimatice timp de 60 min.

Valoarea constantei Michaelis înainte de iradiere: $K_m = 1{,}43 \times 10^{-1} \frac{mol}{l}$.

Valoarea constantei Michaelis după iradierea timp de 60 min.: $K_m = 2{,}02 \times 10^{-1}$ mol/l.

Tabela 2

Variația activității FME cu durata iradiației, pentru diferite concentrații ale substratului

Eritrocite de cal

Concentrația glicerofosfatului g%	S mol/l	$1/S.10^{-1}$	V*)	1/V	V_{30}**)	$1/V_{30}$	V_{60}***)	$1/V_{00}$
1,25	0,0578	1,73	0,072	14,0	0,054	18,5	0,050	20,0
0,75	0,0347	2,88	0,0634	15,7	0,0452	22,1	0,0366	27,3
0,50	0,0231	4,32	0,0452	22,1	0,036	28,0	0,0250	40,0
0,25	0,0166	8,62	0,0264	37,9	0,0232	43,1	0,0136	73,5

*) V — viteza de hidroliză înainte de iradiere, constanta Michaelis: $K_m = 0,4 \times 10^{-1}$.
**) V_{30} — viteza de hidroliză după iradierea timp de 30 min, constanta Michaelis: $K_m = 0,294 \times 10^{-1}$
***) V_{60} — viteza de hidroliză după iradierea timp de 60 min, constanta Michaelis · $K_m = 1,0 \times 10^{-1}$

Cu ajutorul lor au fost trasate dreptele care reprezintă variația vitezei de hidroliză în funcție de concentrația substratului (fig. 1 și 2).

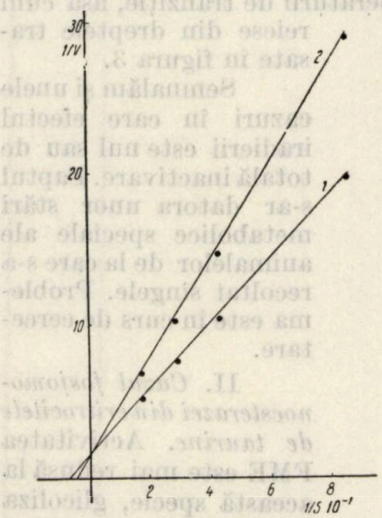


Fig. 1. — Influența duratei de iradiere asupra FME de cal. Reprezentarea grafică a ecuației Michaelis.
1 — Înainte de iradiere; *2* — după iradiere timp de 60 min.

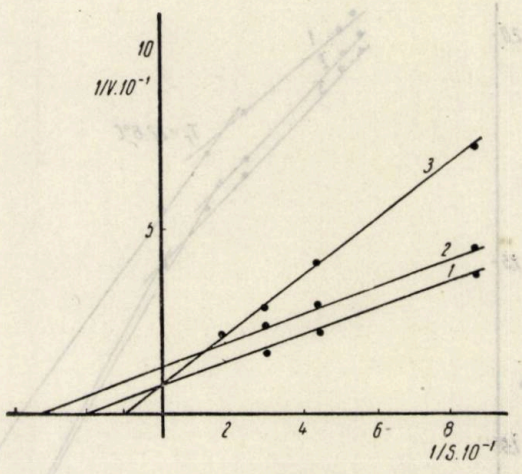


Fig. 2. — Influența duratei de iradiere asupra FME de cal. Reprezentarea grafică a ecuației Michaelis.
1 — Înainte de iradiere; *2* — după iradiere timp de 30 min.; *3* — după iradiere timp de 60 min.

Se constată că iradierea face să crească valoarea constantei Michaelis, ceea ce denotă o scădere a afinității față de substrat.

Pentru trasarea dreptelor Arrhenius și calcularea energiei de activare s-a determinat activitatea enzimatică la diferite temperaturi, pentru aceeași concentrație a substratului (tabela 3).

Tabela 3

Activitatea FME înainte şi după iradiere, la diferite temperaturi

Eritrocite de cal

Temp. °C	$1/T.10^4$	Neiradiat		Iradiat 15 min		Iradiat 30 min	
		K*)	log K	K	log K	K	log K
−2	36,9	9,6	0,98227	4,4	0,64345	4,3	0,63347
16	34,6	45,2	1,65514	32,0	1,50515	32,4	1,50515
20	34,0	63,4	1,80072	50,0	1,69897	45,2	1,65514
25	33,5	83,0	1,91908	63,4	1,80209	56,0	1,74819
37	32,2	132,6	2,12254	128,0	2,10721	100,0	2,00000
40	31,9	150,0	2,17609	132,6	2,12254	118,0	2,07188

*) K – constanta de viteză în unităţi Bodansky, mg P liberat de 100 ml eritrocite într-o oră, la diferite temperaturi (cuprinse în tabelă).

După cum reiese din figura 3, energia de activare creşte prin iradiere. Variaţiile cantitative sînt redate în tabela 4. Iradierea produce şi o deplasare a temperaturii de tranziţie, aşa cum reiese din dreptele trasate în figura 3.

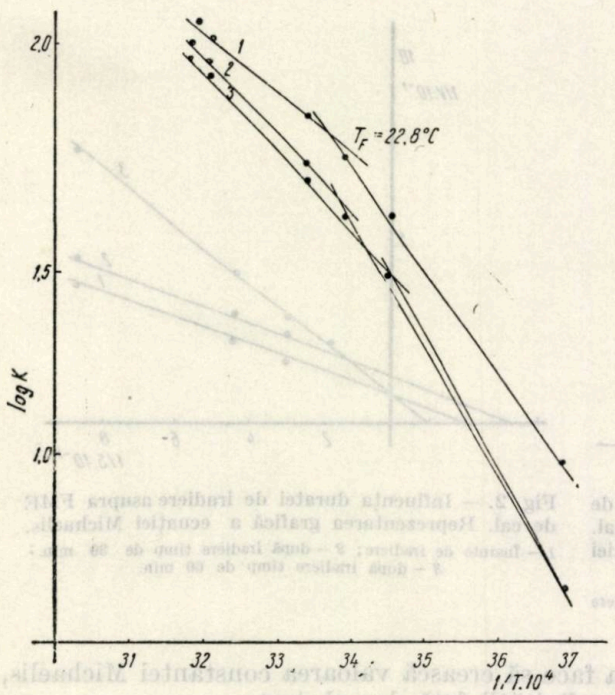


Fig. 3. — Influenţa temperaturii asupra FME de cal.
1 – înainte de iradiere; *2* – după iradiere timp de 15 min; *3* – după iradiere timp de 30 min; K – constanta de viteză exprimată în mg P eliberat de 100 ml eritrocite după o oră în soluţie substrat 0,0578 M, tampon acetat pH 4,8 de concentraţie M/15. T_F – temperatura de tranziţie.

Semnalăm şi unele cazuri în care efectul iradierii este nul sau de totală inactivare. Faptul s-ar datora unor stări metabolice speciale ale animalelor de la care s-a recoltat sîngele. Problema este în curs de cercetare.

II. *Cazul fosfomonoesterazei din eritrocitele de taurine.* Activitatea FME este mai redusă la această specie, glicoliza din globulele roşii fiind mai puţin intensă. Efectul iradierii se accentuează şi în acest caz cu durata. Faptul reiese clar din tabela 5.

Cu ajutorul datelor din această tabelă au fost trasate dreptele corespunzătoare din figura 4.

Tabela 4

Valoarea energiei de activare a FME de cal, înainte și după iradiere

Neiradiat		Iradiat 15 min		Iradiat 30 min	
înainte de T_F*)	după T_F	înainte de T_F	după T_F	înainte de T_F	după T_F
14160 $\frac{cal}{mol}$	8955 $\frac{cal}{mol}$	17620 $\frac{cal}{mol}$	11500 $\frac{cal}{mol}$	18150 $\frac{cal}{mol}$	11666 $\frac{cal}{mol}$

*) T_F — temperatura de tranziție a FME.

În acest caz iradierea timp de 60 min provoacă o inhibiție puternică, afinitatea enzimei pentru substrat scăzînd considerabil. Variația activității cu temperatura este redată în tabela 6, iar dreptele Arrhenius respec-

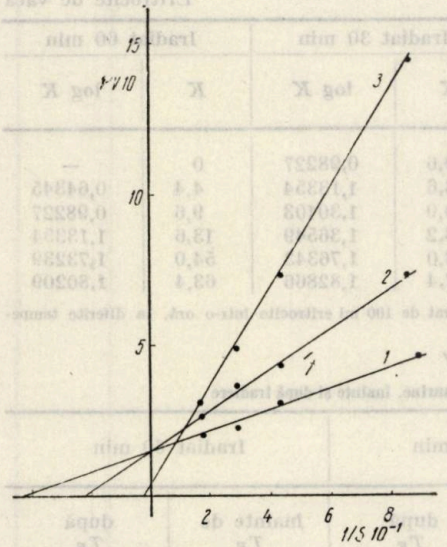


Fig. 4. — Influența duratei de iradiere asupra FME de taurine. Reprezentarea grafică a ecuației lui Michaelis.

1 — Înainte de iradiere; *2* — după iradiere timp de 30 min; *3* — după iradiere timp de 60 min.

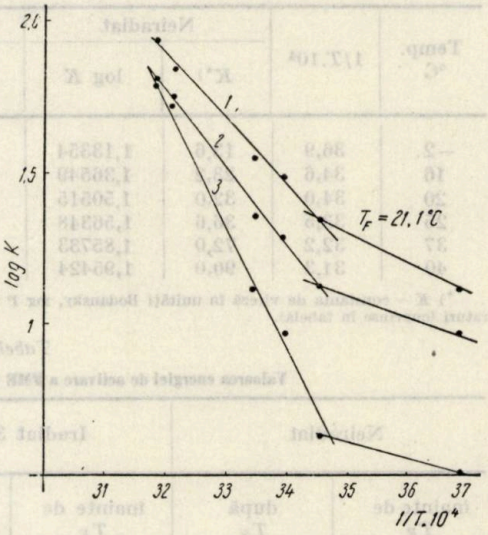


Fig. 5. — Influența temperaturii asupra FME de taurine.

1 — Înainte de iradiere; *2* — după iradiere timp de 30 min; *3* — după iradiere timp de 60 min; K și T_F au aceeași semnificație ca în figura 3.

tive în figura 5. Se observă și în acest caz că energia de activare crește peste punctul de tranziție.

În tabela 7 sînt înregistrate valorile înainte și după iradiere.

Din tabelă se observă că energia de activare crește peste temperatura punctului de tranziție și scade sub acest punct.

Tabela 5

Variaţia activităţii FME cu durata de iradiaţie, pentru diferite concentraţii ale substratului

Eritrocite de vacă

Concentraţia glicerofosfatului g%	S mol/l	$1/S.10^{-1}$	V*) g%	1/V	V_{30}**) g%	$1/V_{30}$	V_{60}***) g%	$1/V_{60}$
1,25	0,0578	1,73	0,054	20,3	0,0366	27,3	0,032	31,2
0,75	0,0347	2,88	0,0452	22,1	0,0264	37,8	0,0216	46,2
0,50	0,0231	4,32	0,032	31,2	0,0232	43,1	0,0136	73,5
0,25	0,0166	8,62	0,0232	43,1	0,0120	72,0	0,0068	145,0

*) V – viteza de hidroliză înainte de iradiere, constanta Michaelis : $K_m = 0{,}238 \times 10^{-1}$. mol/l

**) V_{30} – viteza de hidroliză după iradiere timp de 30 min, constanta Michaelis : $K_m = 0{,}454 \times 10^{-1}$ mol/l

***) V_{61} – viteza de hidroliză după iradiere timp de 60 min, constanta Michaelis : $K_m = 5{,}0 \times 10^{-1}$. mol/l

Tabela 6

Activitatea FME înainte şi după iradiere, la diferite temperaturi

Eritrocite de vacă

Temp. °C	$1/T.10^4$	Neiradiat		Iradiat 30 min		Iradiat 60 min	
		K*)	log K	K	log K	K	log K
−2	36,9	13,6	1,13354	9,6	0,98227	0	—
16	34,6	23,2	1,36549	13,6	1,13354	4,4	0,64345
20	34,0	32,0	1,50515	20,0	1,30103	9,6	0,98227
25	33,5	36,6	1,56348	23,2	1,36549	13,6	1,13354
37	32,2	72,0	1,85733	58,0	1,76343	54,0	1,73239
40	31,3	90,0	1,95424	67,4	1,82866	63,4	1,80209

*) K – constanta de viteză în unităţi Bodansky, mg P liberat de 100 ml eritrocite într-o oră, la diferite temperaturi (cuprinse în tabelă).

Tabela 7

Valoarea energiei de activare a FME la taurine, înainte şi după iradiere

Neiradiat		Iradiat 30 min		Iradiat 60 min	
înainte de T_F	după T_F	înainte de T_F	după T_F	înainte de T_F	după T_F
4893 $\frac{cal}{mol}$	11052 $\frac{cal}{mol}$	4300 $\frac{cal}{mol}$	12700 $\frac{cal}{mol}$	3027 $\frac{cal}{mol}$	20000 $\frac{cal}{mol}$

DISCUŢII

Din datele experimentale obţinute reiese că iradierea soluţiilor de FME cu fluxul radiant bogat în neutroni, obţinut în canalele biologice ale reactorului IFA, produce o inhibiţie a activităţii enzimatice. Natura acestei inhibiţii variază cu durata de iradiere şi cu activitatea enzimatică a soluţiei.

Din figura 1 rezultă că iradierea timp de 60 min provoacă o inhibiție competitivă, deoarece dreapta care reprezintă variația vitezei de hidroliză în raport cu concentrația substratului verifică ecuația

$$\frac{1}{V} = \frac{K_m}{V_m}\left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right) \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_m}, \qquad (1)$$

în loc să verifice ecuația (2), corespunzătoare FME neiradiate

$$\frac{1}{V} = \frac{K_m}{V_m} \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_m} \qquad (2)$$

Se vede din ecuația (1) că panta dreptei respective a crescut, devenind

$$\frac{K_m}{V_m}\left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right)$$

în loc de

$$\frac{K_m}{V_m}$$

Valoarea vitezei maxime, (V_m) a rămas aceeași. Modificarea de mai sus a ecuației care reprezintă cinetica activității enzimatice este specifică blocării parțiale a centrilor activi de către inhibitor.

În cazul reprezentat prin dreptele din figura 2, se constată că, dacă iradierea este de scurtă durată, datele experimentale obținute verifică ecuația de forma

$$\frac{1}{V} = \frac{K_m}{V_m} \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_m}\left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right). \qquad (3)$$

Această dreaptă are aceeași pantă, K_m/V_m ca în cazul FME neiradiate, însă viteza de hidroliză scade. Această schimbare corespunde unui alt tip de inhibiție, denumit inhibiție cuplată, deoarece se datorește formării unui complex enzimă-substrat-inhibitor. Conform schemei de reacție a lui Michaelis

$$E + S + I \rightleftharpoons E - S - I$$

complexul E—S—I este inactiv, ca și compusul E—I, în sensul că nu poate suferi descompunerea hidrolitică cu liberarea fosfatului.

Constanta de disociere a acestui complex, K_i, este egală cu aceea a complexului enzimă-inhibitor (E—I). După cum se vede, deosebirea de alte tipuri de inhibiție constă în aceea că inhibitorul nu reacționează numai cu enzima, ci și cu complexul enzimă-substrat, de unde și denumirea de inhibiție cuplată. Afinitatea enzimei pentru substrat sporește, însă viteza de descompunere se micșorează. În cazul nostru, existența acestui tip de inhibiție se datorește probabil unor asociații moleculare ale proteinei enzimatice, fapt curent în cazul iradierii soluțiilor de proteine [3].

Dacă iradierea se prelungeşte la 60 min inhibiţia devine competitivă (dreapta *3* din figura 2). Cînd activitatea enzimatică a soluţiei iradiate este mică, iradierea prelungită poate produce o inhibiţie distructivă , aşa cum se vede în cazul FME la taurine (dreapta *3* din figura 4). În acest caz, din cauza scăderii simţitoare a afinităţii pentru substrat, va fi nevoie de o mare concentraţie a acestuia pentru ca hidroliza să se producă. Faptul se verifică experimental, după cum se vede din datele conţinute în tabela 5, intersecţia cu axa ordonatelor coborînd mult către originea axelor de coordonate, în cazul reprezentării grafice a vitezei de hidroliză în funcţie de concentraţia substratului (dreapta *3* din figura 4).

Din aspectul dreptelor Arrhenius trasate rezultă că iradierea produce o creştere a energiei de activare, ceea ce denotă că se produce o scădere a calităţii enzimatice, mai ales pentru temperaturi peste punctul de tranziţie.

Deplasarea temperaturii de tranziţie, pe de altă parte, poate fi explicată prin despecificarea proteinei enzimatice, constatare utilă din punct de vedere practic.

CONCLUZII

Iradierea cu un flux complex, bogat în neutroni rapizi (flux de reactor), produce în general o inhibiţie a activităţii fosfomonoesterazei acide eritrocitare. Faptul se manifestă prin creşterea constantei Michaelis (K_m).

Studiul cinetic al activităţii enzimatice permite a se stabili că natura inhibiţiei şi mărimea ei depind de durata iradierii şi de activitatea soluţiei enzimatice.

Tipurile de inhibiţie întîlnite se succed în ordinea: inhibiţie cuplată, inhibiţie competitivă şi inhibiţie distructivă, pe măsură ce creşte durata de iradiere.

Energia de activare creşte cu durata iradierii, ceea ce corespunde unei scăderi a calităţii enzimei.

Prezentată la redacţie la 10 aprilie 1961

Laboratorul de biochimie, Facultatea de medicină veterinară şi Institutul de fizică atomică, Bucureşti

ДЕЙСТВИЕ КОМПЛЕКСНОГО ЛУЧЕВОГО ПОТОКА НА ЭРИТРОЦИТАРНУЮ ФОСФОМОНОЭСТЕРАЗУ

РЕЗЮМЕ

С целью исследования последствий облучения нейтронами эритроцитарной кислой фосфомоноэстеразы (ЭКФ) авторы использовали комплексный лучевой поток, полученный в атомном реакторе Институ-

та атомной физики. Было констатировано, что облучение энзиматических растворов приводит, как правило, к снижению их активности. Природа торможения зависит от длительности облучения и от начальной энзиматической активности.

При помощи графического изображения уравнения Михаелиса было установлено, что торможение может быть спаренным, конкурентным или деструктивным. Энергия активации возрастает во время облучения, что указывает, на снижение качества энзима.

ОБЪЯСНЕНИЕ РИСУНКОВ

Рис. 1. — Влияние продолжительности облучения на ЭКФ лошади. Графическое изображение уравнения Михаелиса. Прямая 1 — до облучения. Прямая 2 — после облучения в течение 60 мин.

Рис. 2. — Влияние продолжительности облучения на ЭКФ лошади. Графическое представление уравнения Михаелиса. Прямая 1 — до облучения. Прямая 2 — после облучения в течение 30 мин. Прямая 3 — после облучения в течение 60 мин.

Рис. 3. — Влияние температуры на ЭКФ лошади. Прямая 1 — до облучения. Прямая 2 — после облучения в течение 15 мин. Прямая 3 — после облучения в течение 30 мин. K — постоянная скорости, выраженная в мг P, выделяемого 100 мл эритроцитов через час в 0,0578 М растворе субстрата, в присутствии ацетатного буфера (pH = 4,8) концентрации М/15. T_F — температура перехода.

Рис. 4. — Влияние продолжительности облучения на ЭКФ рогатого скота. Графическое изображение уравнения Михаелиса. Прямая 1— до облучения. Прямая 2 — после облучения в течение 30 мин. Прямая 3 — после облучения в течение 60 мин.

Рис. 5. — Влияние температуры на ЭКФ рогатого скота. Прямая 1 — до облучения. Прямая 2 — после облучения в течение 30 мин. Прямая 3 — после облучения в течение 60 мин. K и T_F имеет то же значение, что и на рис. 3.

ACTION D'UN FLUX IRRADIANT COMPLEXE SUR LA PHOSPHO-MONOESTÉRASE ÉRYTHROCYTAIRE

RÉSUMÉ

En vue d'étudier l'effet de l'irradiation aux neutrons sur la phosphomonoestérase acide érythrocytaire (F.M.E.), on a utilisé un flux radiant complexe, produit par le réacteur atomique de l'I.F.A. (Institut de Physique atomique de l'Académie de la R.P.R.). On a constaté que l'irradiation des solutions enzymatiques détermine généralement une baisse de leur activité. La nature de l'inhibition dépend de la durée de l'irradiation et de l'activité enzymatique initiale.

A l'aide de la représentation graphique de l'équation de Michaelis, on a établi que l'inhibition peut être couplée, compétitive ou destructive. L'énergie d'activation croît au cours de l'irradiation, ce qui dénote une baisse de la qualité de l'enzyme.

EXPLICATION DES FIGURES

Fig. 1. — Influence de la durée de l'irradiation sur la F.M.E. de cheval. Représentation graphique de l'équation de Michaelis. La droite *1* — avant l'irradiation ; la droite *2* — après irradiation pendant 60 minutes.

Fig. 2. — Influence de la durée de l'irradiation sur la F.M.E. de cheval. Représentation graphique de l'équation de Michaelis. La droite *1* — avant l'irradiation, la droite *2* — après une irradiation de 30 minutes ; la droite *3* — après une irradiation de 60 minutes.

Fig. 3. — Influence de la température sur la F.M.E. de cheval. La droite *1* — avant l'irradiation ; la droite *2* — après une irradiation de 15 minutes ; la droite *3*—après une irradiation de 30 minutes.

K = constante de vitesse, exprimée en mg P libéré par 100 ml d'érythrocytes en une heure, en solution-substrat 0,0578 M, acétate-tampon, pH = 4,8, conc. M/15. T_F = température de transition.

Fig. 4. — Influence de la durée de l'irradiation sur la F.M.E. de taurins. Représentation graphique de l'équation de Michaelis. La droite *1* — avant l'irradiation ; la droite *2* — après 30 minutes d'irradiation ; la droite *3* — après une irradiation de 60 minutes.

Fig. 5. — Influence de la température sur la F.M.E. de taurins. La droite *1* — avant l'irradiation ; la droite *2* — après 30 minutes d'irradiation ; la droite *3* — après 60 minutes d'irradiation. K et T_F, même signification que pour la figure 3.

BIBLIOGRAFIE

1. Buruiană L. M., Hadarag El., Varachiu N., *Modificarea activităţii fosfomonoesterazei eritrocitare la cal în urma efortului.* Studii şi cercet. biochimie, **I**, *2*, 115 (1958).
2. Buruiană L. M., Hadarag El., *Studiul dreptelor Arrhenius în cazul fosfomonoesterazei eritrocitare.* Studii şi cercet. biochimie, III, *2*, 141 (1960).
3. Буруяна Л. М., Павлу В., *Полярографический анализ растворов белков, подвергшихся действию ионизирующей радиации слабой интенсивности.* Акад. наук СССР, Биохимия, **25**, *4*, 593 (1960).
4. Dale N. M., *The effects of ionising radiations on enzymes in vitro. Ciba Foundation Symposium on ionising radiations and cell metabolism.* Ed. I. and A. Churchill, London, 1956.
5. Lachapele A. P., Barabeu J., Delmont G., *Enzymes et radiations.* J. Radiob. Electrol. Med. Nuc., **39**, *9—10*, 650 (1958).
6. Lineweaver H., Burk, D., *The determination of enzymes dissociation constant.* J. Amer-Chem. Soc., **56**, 658 (1934).

CERCETĂRI POLAROGRAFICE ȘI ELECTROFORETICE PRIVIND EFECTUL UNUI FLUX DE NEUTRONI ASUPRA SOLUȚIILOR DE PROTEINE SERICE

DE

L. M. BURUIANĂ, V. PAVLU, I. DEMA, C. DIACONESCU și A. DEMA

Polaroactivitatea proteinelor în soluția lui Brdicka poate constitui un caracter important în ceea ce privește cercetarea structurii lor [2], [3], [4]. Deși mecanismul de formare a undelor catalitice proteice nu este deplin clarificat, este sigur că rolul principal în producerea lor se datorește complecșilor dintre ionii de cobalt și anumite grupări nucleofile, bogate în electroni, din molecula proteinelor. Aceste grupări, în care se întîlnesc legăturile : C—S, C—N, C—O, se împart în două categorii, după valoarea potențialului treptei catalitice a hidrogenului protonizabil. Cele corespunzînd potențialului din jurul valorii — 1,4 V au fost denumite grupări prototropice de ordinul I, iar cele din jurul a — 1,6 V, grupări prototropice de ordinul II [5]. Fiecare grupare corespunde unor anumite structuri chimice intramoleculare, cu care ionii de cobalt formează complecși interni sau chelați [7].

După M. Shinagawa și colaboratori [11], complecșii cobalto-proteici ar forma o gamă continuă de compuși diferiți, care se desfac și se refac treptat în regiunea catalitică, o dată cu variația potențialului. Ei ar servi în cazul proteinelor și ca strat absorbant care împiedică trecerea curentului faradic și ca depolarizant. Această tranziție chimică în jurul electrodului picător de mercur este denumită sugestiv, de autorii citați, diferențială chimică.

Într-o lucrare anterioară [6] s-a arătat că metoda polarografică poate constitui un mijloc sensibil de cercetare a efectului radiațiilor ionizante asupra soluțiilor proteice.

În ceea ce privește influența radiațiilor asupra proteinelor *in vitro* D. Rosen și colaboratori [10] au stabilit că există o diferență netă între efectul radiobiologic al radiațiilor energetice și acela al radiațiilor corpusculare. Pe cînd primele favorizează modificarea structurii de gradul III a

proteinelor, în urma ruperii unor anumite legături chimice, ultimele provoacă modificări sterice intramoleculare, cu redistribuirea electronilor, ceea ce se manifestă prin sporirea coeficientului de absorbţie spectrală în regiunea 2 400 Å (corespunzătoare legăturii peptidice) şi 2 800 Å (corespunzătoare aminoacizilor aromatici).

În lucrarea de faţă s-a cercetat, în continuare, efectul iradierii cu un flux bogat în neutroni asupra soluţiilor unor proteine serice. Ca şi în lucrările precedente [6], [7] s-a recurs în special la analiza polarografică. Deoarece iradierea produce şi schimbări ale potenţialului electrocinetic [8], concomitent cu analiza polarografică s-a cercetat şi comportarea electroforetică a soluţiilor proteice, mai ales că E.S.G. Barron [1] afirmă că în cazul radiaţiilor energetice, chiar de mare intensitate, nu se observă vreo modificare a mobilităţii electroforetice.

MATERIAL ŞI METODE DE LUCRU

Se separă albumina şi globulinele din serul unor specii de animale, sănătoase din punct de vedere clinic. În acest scop se precipită un volum de ser nehemolizat centrifugat, cu un volum egal dintr-o soluţie de sulfat de amoniu saturată. După filtrarea albuminei, precipitatul de globuline se spală cu o soluţie semisaturată de sulfat de amoniu. Soluţia de albumină se dializează cîte 24 ore, succesiv contra apei curente, apei distilate şi soluţiei tampon de fosfaţi m/20 cu pH 6,8. Precipitatul de globuline se dizolvă în apă distilată şi se dializează în acelaşi mod. Spre deosebire de cazul albuminei, precipitatul care se formează în acest caz după dializa contra apei se îndepărtează mai înainte de a termina dializa contra tamponului de fosfaţi. Dializa se face la gheţar, sub toluen.

Soluţiile de proteine astfel obţinute se iradiază timp de o oră într-unul din canalele biologice ale I.F.A., cu fluxul de compoziţia următoare :

neutroni termici . . . . . 2,3 $\times 10^7$/cm^2/s
neutroni epitermici . . . . . 7,1 $\times 10^5$/cm^2/s
neutroni rapizi . . . . . 4,0 $\times 10^7$/cm^2/s
fond gama . . . . . 0,06 r/s.

Se reţin martorii necesari de soluţii neiradiate, iar concentraţia în proteine se determină după metoda Kjeldahl. Analiza polarografică se execută cu ajutorul polarografului Heyrovsky mod. 301—V, prevăzut cu adaptorul cu peniţă [9]. Greutatea picăturii de mercur este $m = 3{,}3$mg/s, iar timpul de picurare $t = 3$ s. Potenţialul se măsoară contra electrodului de calomel saturat. Sensibilitatea este în toate cazurile de 1/100. Se utilizează ca suport soluţia lui Brdicka cu compoziţia

NH_4OH 0,2 M, NH_4Cl 0,1 M, $[Co(NH_3)_6]Cl_3$ 10^{-3} M

şi pentru comparaţie şi soluţia test Brdicka cu ioni cobaltoşi

NH_4OH 0,1 M, NH_4Cl 0,1 M, $CoCl_2$ 3,2 $\times 10^{-3}$M

Analiza electroforetică s-a efectuat prin electroforeză pe hîrtie. S-a utilizat soluția tampon veronal-veronal sodic cu pH 8,6, de forță ionică 0,05. Gradientul de potențial 8V/cm, intensitate 2,5 mA, durata electroforezei 8 ore. Revelarea s-a făcut cu albastru de bromfenol, soluție acetomercurică.

REZULTATELE OBȚINUTE

I. Serul de taurine

Albumina. Subliniem că există o deosebire categorică între polarograma fracțiunii albuminice și a fracțiunii globulinelor. Pe cînd în cazul albuminei prima treaptă catalitică crește mai repede cu concentrația, în

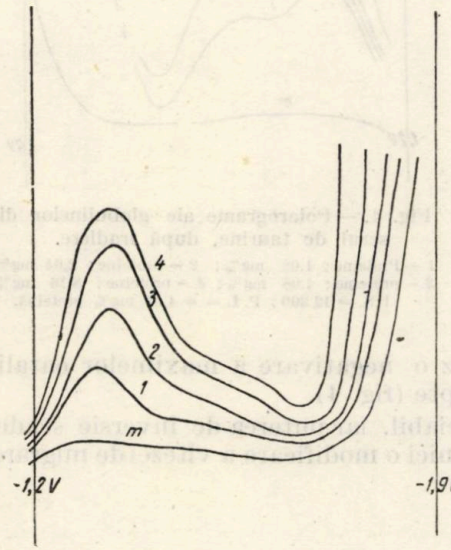


Fig. 1. — Polarograme ale albuminei din serul de taurine, înainte de iradiere.

1 — Proteine : 0,36 mg% ; *2* — proteine : 0,72 mg% ; *3* — proteine ; 1,44 mg% ; *4* — proteine : 2,88 mg% ; P.S. = 7 000 (P.S. = 1/ concentrația (g%) în proteină care scade la jumătate maximul cobaltului) ; *m* — potențialul limită al cobaltului.

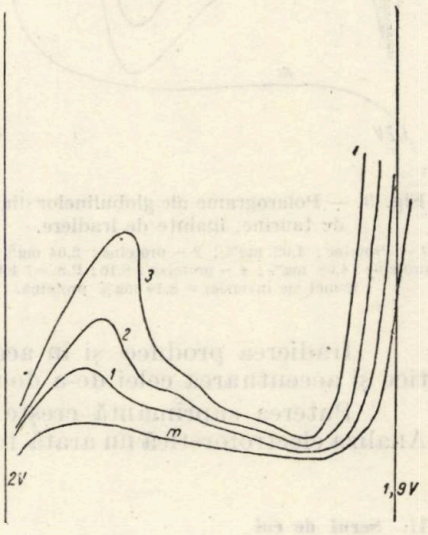


Fig. 2. — Polarograme ale albuminei din serul de taurine. După iradiere.

1 — Proteine : 0,36 mg% ; *2* — proteine : 0,72 mg% ; *3* — proteine : 1,44 mg% ; *4* — proteine : 2,88 mg% ; P.S. = 5100.

cazul globulinelor a doua treaptă crește mai repede. Polarograma caracteristică a albuminei de taurine, pentru concentrații crescînde, este reprezentată în figura 1.

Prin iradiere se produce o negativare a maximelor catalitice, ceea ce denotă o creștere a nucleofiliei grupărilor prototropice (fig. 2).

Puterea suprimantă scade, ceea ce arată că puterea de chelatare a proteinei iradiate față de ionii de cobalt se micșorează.

Globulinele. Conform celor amintite anterior, polarograma acestei fracțiuni este caracterizată prin creșterea mai rapidă, cu concentrația în proteină, a celei de-a doua trepte catalitice (fig. 3).

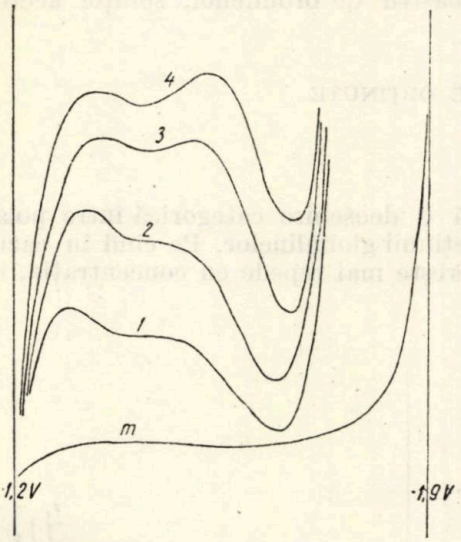


Fig. 3. — Polarograme ale globulinelor din serul de taurine, înainte de iradiere.

1 — Proteine: 1,02 mg%; *2* — proteine: 2,04 mg%; *3* — proteine: 4,08 mg%; *4* — proteine: 8,16; P.S. = 7 400, P. I. (punct de inversie) = 8,14 mg% proteină.

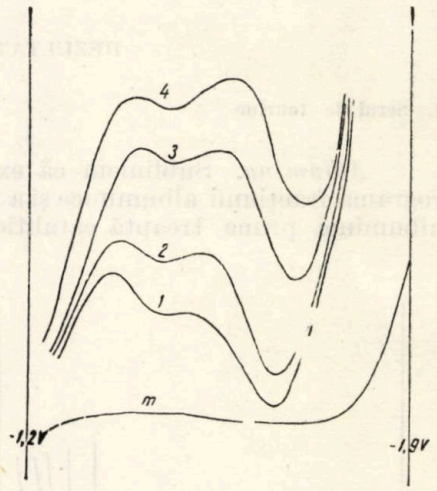


Fig. 4. — Polarograme ale globulinelor din serul de taurine, după iradiere.

1 — Proteine: 1,02 mg%; *2* — proteine: 2,04 mg%; *3* — proteine: 4,08 mg%; *4* — proteine: 8,16 mg%; P.S. = 12 300; P. I. = = 4,05 mg% proteină.

Iradierea produce și în acest caz o negativare a maximelor catalitice și accentuarea celei de-a doua trepte (fig. 4).

Puterea suprimantă crește apreciabil, iar puterea de inversie scade. Analiza electroforetică nu arată totuși nici o modificare a vitezei de migrare.

II. Serul de cal

Albumina. Aspectul polarogramei este asemănător cu al albuminei de taurine, prima treaptă catalitică crescînd mai repede cu concentrația decît a doua treaptă. În urma iradierii se observă numai o ușoară scădere a maximelor catalitice. Puterea suprimantă scade puternic (de la 23 500 la 11 700) ceea ce arată o micșorare a puterii de chelatare. Faptul poate fi interpretat ca o micșorare a edificiului macromolecular proteic.

Globulinele. Polarograma este specifică acestei fracțiuni, cea de-a doua treaptă catalitică crescînd mai repede cu concentrația decît prima. Iradierea produce o negativare a maximelor, ceea ce corespunde unei nucleofilii crescute. Puterea suprimantă scade puțin (de la 7600 la 6100).

Analiza electroforetică arată o modificare a vitezei de migrare (creștere) a albuminei (fig. 5).

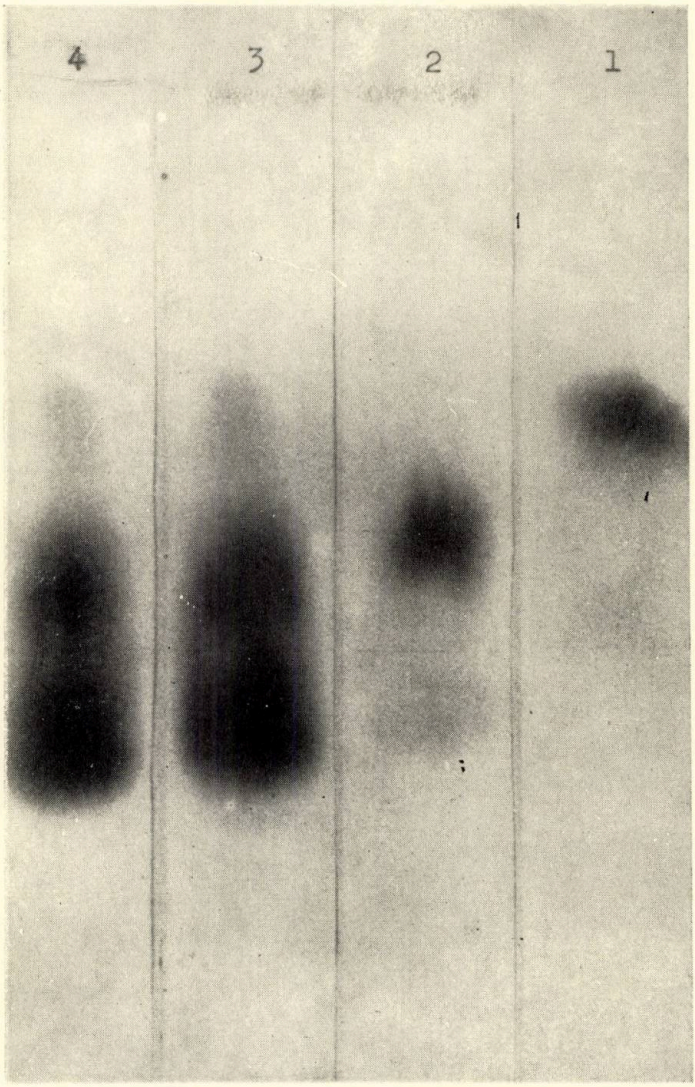


Fig. 5. — Proteinograma serului de cal.

1 — Albumina după iradiere; *2* — albumina înainte de iradiere; *3* — globulinele după iradiere; *4* — globulinele înainte de iradiere.

Viteza de migrare a globulinelor nu variază. Subliniem acest fapt, deoarece M. Wakabayashi și colaboratori [12] au observat că sub influența radiațiilor ionizante și în prezența oxigenului fracțiunile β- și γ-globulinice se apropie.

III. Serul de porc

Albumina. Polarograma este specifică acestei fracțiuni, așa cum s-a menționat anterior. Iradierea produce o scădere a primei trepte catalitice pentru concentrații mici și o sporire pentru concentrații mai mari. Puterea suprimantă se modifică ușor (crește de la 5500 la 6100).

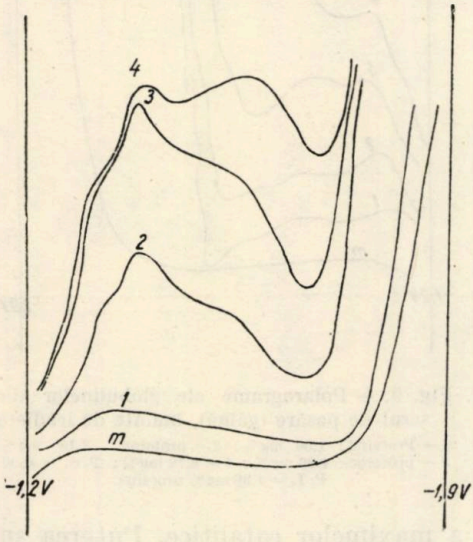


Fig. 6. — Polarograme ale globulinelor din serul de porc, înainte de iradiere.

1 — Proteine : 2,085 mg% ; *2* — proteine : 4,17 mg% ; *3* — proteine : 8,34 mg% ; *4* — proteine : 16,68 mg% ; P.S. = 5 000 ; P. I. = 16,70 mg% proteină.

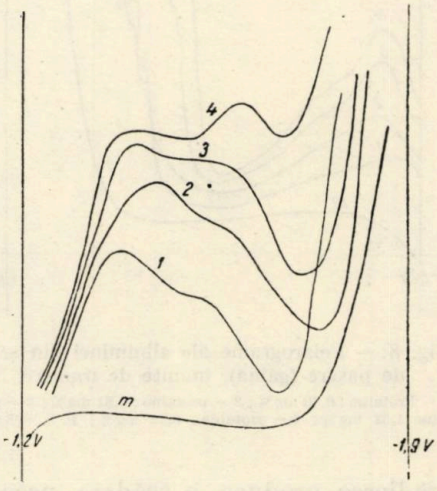


Fig. 7. — Polarograme ale globulinelor din serul de porc, după iradiere.

1 — Proteine : 2,085 mg% ; *2* — proteine : 4,17 mg% ; *3* — proteine : 8,34 mg% ; *4* — proteine : 16,68 mg% ; P.S. = 5000 ; P. I. = 8,35 mg% proteină.

Globulinele. Polarograma este specifică acestei fracțiuni. Iradierea produce un efect invers celui din cazul albuminei, și anume înălțimea primei trepte catalitice crește pentru concentrații mici și scade pentru concentrații mari. Faptul se poate observa clar dacă se compară polarogramele *1* și *2* din figurile 6 și 7.

Acest mod de comportare, caracteristic pentru proteinele serului de porc, se poate explica admițînd că hidrofilia grupelor prototropice se modifică în mod inegal cu concentrația prin iradiere, ceea ce atrage variația electrofiliei grupărilor active.

În ceea ce privește electroforegrama, nu se constată nici o modificare a vitezei de migrare după iradiere.

V. Serul de pasăre (găină)

Albumina. Polarograma prezintă acelaşi aspect caracteristic fracţiunii albuminice. Maximele catalitice sînt însă deplasate (cu circa 0,1 V) către potenţialele pozitive (fig. 8).

Faptul corespunde unei nucleofilii mai mici a grupărilor prototropice de ordinul I şi II, şi deci unei alte componenţe a grupărilor polaractive.

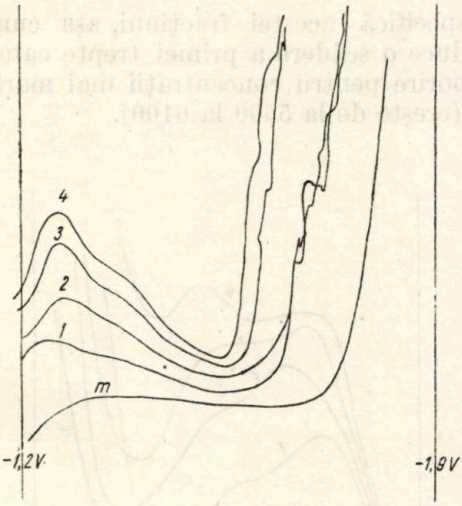


Fig. 8. — Polarograme ale albuminei din serul de pasăre (găină), înainte de iradiere.
1 — Proteine : 0,40 mg% ; *2* — proteine : 0,81 mg% ; *3* — proteine :1,62 mg% ; *4* — proteine : 3,24 mg% ; P. S. = 8 800.

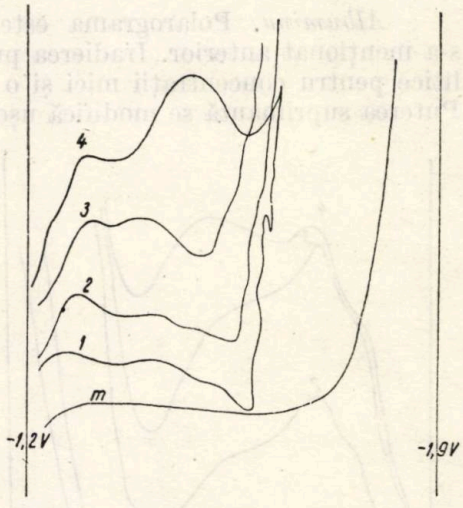


Fig. 9. — Polarograme ale globulinelor din serul de pasăre (găină), înainte de iradiere.
1 — Proteine : 1,09 mg% ; *2* — proteine : 2,18 mg% ; *3* — proteine : 4,36 mg% ; *4* — 8,72 mg% ; P. S. = 4500 ; P. I. = 4,36 mg% proteină.

Iradierea produce o scădere uşoară a maximelor catalitice. Puterea suprimantă nu se modifică semnificativ.

Globulinele. Polarograma este specifică acestei fracţiuni, cu deosebirea că şi în acest caz, ca şi la albuminele de pasăre, se observă o pozitivare a maximelor catalitice (fig. 9).

Iradierea produce o scădere simţitoare a înălţimii treptelor catalitice şi o deplasare a maximelor către potenţialele negative (fig. 10).

Rezultă deci că electrofilia grupărilor prototropice scade, iar nucleofilia lor sporeşte. Faptul, paradoxal la prima vedere, se poate explica prin modificările *calitative* ale structurii electronice a grupărilor polaractive sub efectul iradierii. Acest mod de comportare a globulinelor nu a mai fost întîlnit în cursul prezentelor cercetări. Împrejurarea trebuie să fie pusă în legătură cu structura specifică a acestei fracţiuni proteice la păsări. Puterea de inversie se măreşte, ceea ce arată că hidrofilia grupelor active se schimbă prin iradiere. Puterea suprimantă nu se modifică.

Subliniem că activitatea polarografică a diferitelor fracţiuni cercetate depinde de valenţa ionului cobalt. Ea este mai accentuată în cazul

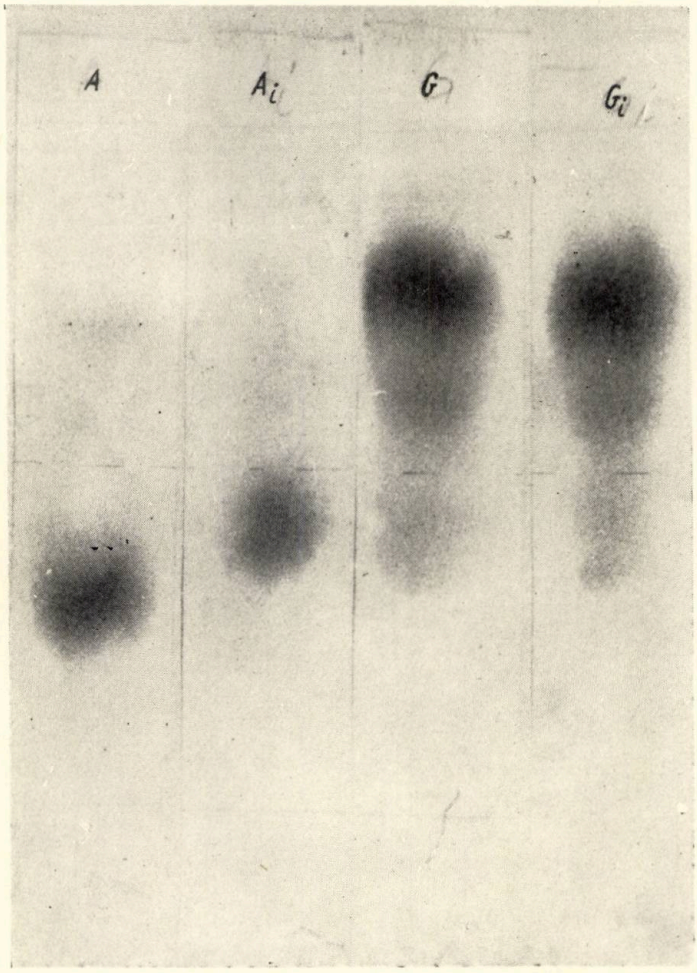


Fig. 12. — Proteinograma serului de pasăre (găină).
A — Albumina înainte de iradiere; A_i — albumina după iradiere; *G* — globulinele înainte de iradiere; G_i — globulinele după iradiere.

ionilor Co^{3+} decît a ionilor Co^{2+}. Faptul este ilustrat într-un singur caz, reprezentat în figura 11, în care s-a utilizat aceeași soluție de globuline ca și în polarogramele din figura 9.

Sporirea puterii suprimante în acest caz denotă o micșorare a stabilității chelaților respectivi.

Analiza electroforetică a fracțiunilor proteice la păsări arată că iradierea modifică (micșorează) viteza de migrare a albuminelor (fig. 12).

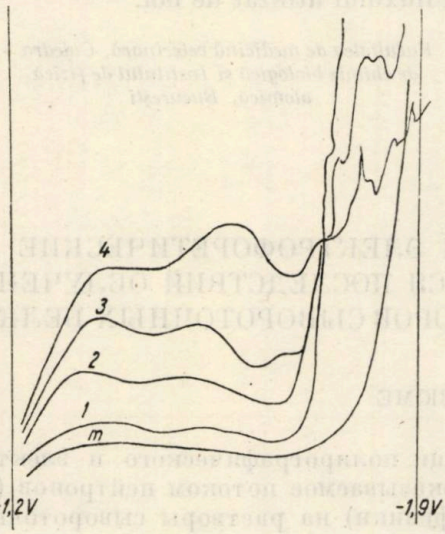


Fig. 10. — Polarograme ale globulinelor din serul de pasăre (găină), după iradiere.
1 — Proteine : 1,09 mg% ; *2* — proteine : 2,18 mg% ; *3* — proteine : 4,36 mg% ; *4* — proteine : 8,72 mg% ; P. S. = 4 500 ; P. I. = 8,72 mg% proteină.

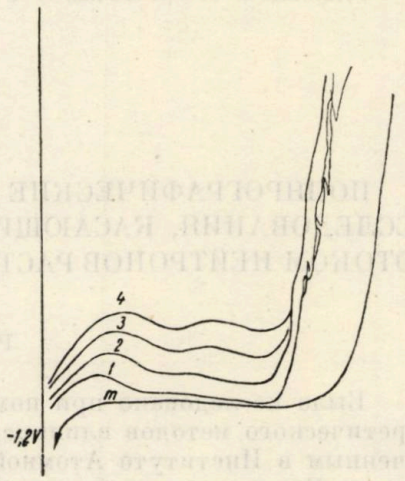


Fig. 11. — Polarograme ale globulinelor din serul de pasăre (găină), înainte de iradiere în soluția test Brdicka Co^{2+}.
1 — Proteine : 1,09 mg% ; *2* — proteine : 2,18 mg% *3* — proteine : 4,36 mg% ; *4* — proteine : 8,72 mg% ; P. S. = 13 200 ; P. I. = 8,72 mg proteină.

Globulinele nu-și schimbă viteza de migrare. Menționăm că această viteză este mai mare în mod normal, față de alte specii. Această particularitate coincide cu polaroactivitatea diferită a acestei fracțiuni.

CONCLUZII

1 . Iradirea unor soluții de proteine serice cu un flux de neutroni produce modificări structurale care pot fi puse în evidență cu ajutorul analizei polarografice și electroforetice.

2. Din punct de vedere polarografic, modificările produse se caracterizează prin schimbarea electrofiliei grupărilor prototropice, a puterii suprimante și a punctului de inversie, iar din punct de vedere electroforetic prin variația vitezei de migrare.

3. Toate proteinele cercetate suferă în urma iradierii modificări ale activităţii polarografice. Cele mai accentuate modificări s-au observat în cazul globulinelor de pasăre.

4. Din punct de vedere electroforetic, numai albumina de cal şi de pasăre arată modificări ale vitezei de migrare. Globulinele nu sînt influenţate din acest punct de vedere.

5. Spre deosebire de acţiunea radiaţiilor energetice, care este total sau parţial reversibilă (pentru intensităţi relativ mici), efectul radiaţiilor corpusculare este ireversibil în cazul fluxului utilizat de noi.

Prezentată la redacţie la 3 mai 1961

Facultatea de medicină veterinară, Catedra de chimie biologică şi Institutul de fizică atomică, Bucureşti

ПОЛЯРОГРАФИЧЕСКИЕ И ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ, КАСАЮЩИЕСЯ ПОСЛЕДСТВИЙ ОБЛУЧЕНИЯ ПОТОКОМ НЕЙТРОНОВ РАСТВОРОВ СЫВОРОТОЧНЫХ БЕЛКОВ

РЕЗЮМЕ

Было исследовано при помощи полярографического и электрофоретического методов влияние, оказываемое потоком нейтронов (полученным в Институте Атомной физики) на растворы сывороточных белков. Было констатировано во всех случаях различное изменение интенсивности полярной активности после облучения. Наиболее ярко выраженные изменения встречаются в случае глобулинов птиц. Белки сыворотки свиньи (албумины и глобулины) выявляют специфические изменения в том смысле, что после облучения их полярографическая активность изменяется в зависимости от концентрации. С электрофоретической точки зрения, только у альбуминов лощади и птиц возрастает скорость миграции. Глобулины исследованных видов не подвергаются никаким изменениям.

Изменения, замеченные в результате облучения нейтронным потоком, необратимы; это указывает на то, что имеют место значительные и окончательные изменения структуры белковых макромолекул, под влиянием прямого действия корпускулярных излучений. Метод полярографического анализа может наряду с другими методами исследования давать ценные результаты для радиобиологии.

ОБЪЯСНЕНИЕ РИСУНКОВ

Рис. 1. — Полярограммы альбумина сыворотки рогатого скота. До облучения Кривая 1 — белки: 0,36 мг %. Кривая 2 — белки: 0,72 мг %. Кривая 3 — белки: 1,44 мг %. Кривая 4 — белки: 2,88 мг %. А. Д. (аннулирующее действие) =

7000; А. Д. =1/концентрация (г %) белка, снижающая до половины максимум кобальта; m — предельный потенциал кобальта.

Рис. 2. — Полярограммы альбумина сыворотки рогатого скота. После облучения. Кривая 1 — белки: 0,36 мг %. Кривая 2 — белки: 0,72 мг %. Кривая 3 — белки: 1,44 мг %. Кривая 4 — белки: 2,88 мг %. А. Д. =5 100.

Рис. 3. — Полярограммы глобулинов сыворотки рогатого скота. До облучения. Кривая 1 — белки; 1,02 мг %. Кривая 2 — белки: 2,04 мг %. Кривая 3 — белки: 4,08 мг %. Кривая 4 — белки: 8,16 мг %. А. Д. = 7400. Т. И. (точка инверсии) = 8,14 мг % белка.

Рис. 4. — Полярограммы глобулинов сыворотки рогатого скота. После облучения. Кривая 1 — белки: 1,02 мг %. Кривая 2 — белки: 2,04 мг %. Кривая 3 — белки: 4,08 мг %. Кривая 4 — белки: 8,16 мг %. А. Д.= 12300. Т. И. = 4,05мг % белка.

Рис. 5. — Полярограмма белков сыворотки лошади. 1. Альбумин после облучения. 2. Альбумин до облучения. 3. Глобулин после облучения. 4. Глобулин до облучения.

Рис. 6. — Полярограммы глобулинов сыворотки свиньи. До облучения. Кривая 1 — белки: 2,085 мг %. Кривая 2 — белки: 4,17 мг %. Кривая 3 — белки: 8,34 мг %. Кривая 4 — белки: 16,68 мг %. А. Д.=50. Т. И.=16,70 мг % белка.

Рис. 7. — Полярограммы глобулинов сыворотки свиньи. После облучения. Кривая 1 — белки: 2,085 мг %. Кривая 2 — белки: 4,17 мг %. Кривая 3 — белки: 8,34 мг %. Кривая 4 — белки: 16,68 мг %. А. Д.=5 000. Т. И.=8,35 мг % белка.

Рис. 8. — Полярограммы альбумина сыворотки птицы (курицы). До облучения. Кривая 1 — белки: 0,40 мг %. Кривая 2 — белки: 0,81 мг %. Кривая 3 — белки: 1,62 мг %. Кривая 4 — белки: 3,24 мг %. А. Д. — 8800.

Рис. 9. — Полярограммы глобулинов сыворотки птицы (курицы). До облучения. Кривая 1 — белки: 1,09 мг %. Кривая 2 — белки: 2,18 мг %. Кривая 3 — белки: 4,36 мг %. Кривая 4 — белки: 8,72 мг %. А. Д.=4 500. Т. И.=4,36 мг % белка.

Рис. 10. — Полярограммы глобулинов сыворотки птицы (курицы). После облучения. Кривая 1 — белки: 1,09 мг %. Кривая 2 — белки: 2,18 мг %. Кривая 3 — белки: 4,36 мг %. Кривая 4 — белки: 8,72 мг %. А. Д. = 45. Т. И. = 8,72 мг % белка.

Рис. 11. — Полярограммы глобулинов сыворотки птицы (курицы). До облучения в контрольном растворе по Брдичка C_0^{2+}. Кривая 1 — белки: 1,09 мг %. Кривая 2 — белки: 1,18 мг %. Кривая 3 — белки: 4,36 мг %. Кривая 4 — белки: 8,72 мг %. А. Д. = 132. Т. И. = 8,72 мг % белка.

Рис. 12. — Полярограмма белков сыворотки птицы (курица). A — Альбумин до облучения, A_i — альбумин после облучения; G_i — глобулины до облучения, G_1 — глобулины после облучения.

RECHERCHES POLAROGRAPHIQUES ET ÉLECTROPHORÉTIQUES CONCERNANT L'EFFET D'UN FLUX DE NEUTRONS SUR LES SOLUTIONS DE PROTÉINES SÉRIQUES

RÉSUMÉ

A l'aide des méthodes polarographique et électrophorétique, on a suivi l'effet, sur certaines solutions de protéines sériques, d'un flux riche en neutrons (à l'Institut de Physique atomique). On a constamment constaté des modifications, d'intensité variable, de la polaro-activité, consécutivement à l'irradiation. Les modifications les plus accentuées sont pré-

sentées par les globulines d'oiseau. Les protéines du sérum de porc (albumines et globulines) accusent des modifications spécifiques ; à la suite de l'irradiation, l'activité polarographique varie suivant la concentration. Au point de vue électrophorétique, seules les albumines de cheval et d'oiseau présentent une vitesse de migration accrue. Les globulines des espèces étudiées ne subissent aucune modification.

Les changements déterminés par l'irradiation au flux de neutrons utilisé sont irréversibles, ce qui dénote que, sous l'action directe des radiations corpusculaires, la structure des macromolécules protéiques subit des modifications notables et définitives. La méthode de l'analyse polarographique, associée à d'autres méthodes de recherche, peut donner des résultats précieux en radiobiologie.

EXPLICATION DES FIGURES

Fig. 1. — Polarogrammes de l'albumine du sérum de taurins. Courbe n° 1 — protéines : 0,36 mg %. Courbe n° 2 — protéines : 0,72 mg %. Courbe n° 3 — protéines : 1,44 mg %. Courbe n° 4 — protéines : 2,88 mg %. P.S. = pouvoir supprimant = 7000 (P.S. = 1/concentration (g %) en protéines déterminant la baisse du maximum du cobalt à 1/2) ; m = potentiel limite du cobalt.

Fig. 2. — Polarogrammes de l'albumine du sérum de taurins. Après l'irradiation. Courbe n° 1 — protéines : 0,36 mg %. Courbe n° 2 — protéines : 0,72 mg %. Courbe n° 3 — protéines : 1,44 mg %. Courbe n° 4 — protéines : 2,88 mg %. P.S. = 5 100.

Fig. 3. — Polarogrammes des globulines du sérum de taurins. Avant l'irradiation. Courbe n° 1 — protéines : 1,02 mg %. Courbe n° 2 — protéines : 2,04 mg %. Courbe n° 3 — protéines : 4,08 mg %. Courbe n° 4 — protéines : 8,16 mg %. P.S. = 7 400. P.I. (point d'inversion) = 8,14 mg % protéines.

Fig. 4. — Polarogrammes des globulines du sérum de taurins. Après l'irradiation. Courbe n°1 — protéines : 1,02 mg %. Courbe n° 2 — protéines : 2,04 mg %. Courbe n° 3 — protéines : 4,08 mg %. Courbe n° 4 — protéines : 8,16 mg %. P.S. = 12 300. P.I. = 4,05 mg % protéines.

Fig. 5. — Protéinogramme du sérum de cheval. 1 — Albumine après l'irradiation. 2 — Albumine avant l'irradiation. 3 — Globulines après l'irradiation. 4 — Globulines avant l'irradiation.

Fig. 6. — Polarogrammes des globulines du sérum de porc. Avant l'irradiation. Courbe n° 1 — protéines : 2,085 mg %. Courbe n° 2 — protéines : 4,17 mg %. Courbe n°3 — protéines : 8,34 mg %. Courbe n°4 — protéines : 16,68 mg %. P.S. = 5 000. P.I. = 16,70 mg % protéines.

Fig. 7. — Polarogrammes des globulines du sérum de porc. Après l'irradiation. Courbe n° 1 — protéines : 2,085 mg %. Courbe n° 2 — protéines : 4,17 mg %. Courbe n°3 — protéines : 8,34 mg %. Courbe n° 4 — protéines : 16,68 mg %. P.S. = 5 000. P.I. = 8,35 mg % protéines.

Fig. 8. — Polarogrammes de l'albumine du sérum d'oiseau (poule). Avant l'irradiation. Courbe n° 1 — protéines : 0,40 mg %. Courbe n°2 — protéines : 0,81 mg %. Courbe n°3 — protéines : 1,62 mg %. Courbe n° 4 — protéines : 3,24 mg %. P.S. = 8 800.

Fig. 9. — Polarogrammes des globulines du sérum d'oiseau (poule). Avant l'irradiation. Courbe n°1 — protéines : 1,09 mg %. Courbe n°2 — protéines : 2,18 mg %. Courbe n°3 — protéines : 4,36 mg %. Courbe n° 4 — 8,72 mg %. P.S. — 4 500. P.I. — 4,36 mg %. protéines.

Fig. 10. — Polarogrammes des globulines du sérum d'oiseau (poule). Après l'irradiation. Courbe n°1 — protéines : 1,09 mg %. Courbe n° 2 — protéines : 2,18 mg %. Courbe n° 3 — — protéines : 4,36 mg %. Courbe n° 4 — protéines : 8,72 mg %. P.S. = 4 500. P.I. = 8,72 mg % protéines.

Fig. 11. — Polarogrammes des globulines du sérum d'oiseau (poule). Avant l'irradiation, en solution test Brdicka Co^{2+}. Courbe n° 1 — protéines : 1,09 mg % Courbe n° 2 — — protéines : 2,18 mg %. Courbe n° 3 — protéines : 4,36 mg %. Courbe n° 4 — protéines : 8,72 mg %. P.S. = 13200. P.I. = 8,72 mg % protéine.

Fig. 12. — Protéinogramme du sérum d'oiseau (poule). A — Albumine avant l'irradiation ; A_i — albumine après l'irradiation ; G — globulines avant l'irradiation ; G_i — globulines après l'irradiation.

BIBLIOGRAFIE

1. Barron E.S.G., *The effects of X ray on systems of biological importance*, Chap. 5, 283, în *Radiation Biology*, Ed. A. Hollaender, McGraw Hill, Book Comp, 1954, I_1.
2. Buruiană L. M., Pavlu V., *Le comportement polarographique du sperme*, Naturwiss., *22*, 589 (1957).
3. Buruiană L. M., Pavlu V., *Quelques résultats obtenus à l'aide de la méthode polarographique pendant la protéolyse de la caséine*, Naturwiss., *6*, 132 (1958).
4. Buruiană L. M., Pavlu V., *Quelques particularités des protéines de maïs révélées par l'analyse polarographique*, Naturwiss., *20*, 492 (1958).
5. Buruiană L. M., Pavlu V., Schechter L., *Utilizarea analizei polarografice la cercetarea macrostructurii proteinelor*, Com. sesiunea științifică a Institutului politehnic, București, 18.X.1958.
6. Буруиана. Л. М., Павлу В., *Полярографический анализ растворов белков, подвергшихся действию ионизирующей радиации слабой интенсивности*, Акад. наук СССР, Биохимия, 25, 4, 593 (1960).
7. Буруиана Л. М., Павлу В., *Интерпретация данных полярографического анализа кристаллических протеинов и эффективность воздействия их слабых ионизирующих излучении*, Биофизика, Москва, (1961) (sub tipar).
8. Crowther J. A., Liebman M., Lane T. B., Phil. Mag., **24**, 657 (1937), citat după Bacq Z. M., Alexander P., *Fundamentals of Radiobiology*, Ed. Butterworths Scientific Pub., London, 1955, 117.
9. Pavlu V., Schechter L., *Adaptator pentru înregistrarea directă la polarograful Heyrovsky model V-301*, Bul. Institutului politehnic, București, *3—4*, 89 (1957).
10. Rosen D., Alexander P., Goldberg R., Hamilton L. D.G., *A comparison of the effects of X and χ rays on serum albumin*, Abstracts Papers presented at the Internat. Congress of Rad. Res., Burlington-Vermont, Aug. 10—16, 1958. Referat în Radiation Research **9**, 1, 172 (1958).
11. Shinagawa M., Nezu H., Sunahara H., Nakashima F., Okashita H., Yamada T., *On the morphology of the Brdicka catalytic wave of hydrogen*, în *Advances in polarography*, Ed. Ian S. Longmuir, Pergamon Press 1950, Oxford, London, New York, Paris, 1960, **3**, 1142.
12. Wakabayashi M., Kawamura F., Okidate J., *Protein denaturation by ionizing radiation and role of oxygene*, Jap. J. of Physiol., 5 suppl., 382 (1956).

UNELE CARACTERE BIOCHIMICE ALE PORUMBULUI ȘIȘTĂVIT

DE

M. V. IONESCU, N. N. SĂULESCU, M. IVĂNESCU și M. BÎRSAN

NOTĂ PRELIMINARĂ

Șiștăvirea provoacă importante pierderi de recoltă a porumbului și scade considerabil calitatea acestei cereale. În lucrarea de față dăm cîteva date preliminare referitoare la unul din aspectele mai puțin cunoscute ale fenomenului de șiștăvire, și anume la caracterele biochimice ale unor soiuri și hibrizi dubli de porumb normal și șiștăvit (tabela 1). Astfel de date au fost aduse înaintea noastră și de I. Safta și Șt. Ilcevici [1], care au formulat pe baza lor următoarele concluzii:

1. Între creșterea gradului de șiștăvire și conținutul de amidon al boabelor de porumb nu apare nici o relație bine definită; variația conținutului de amidon este puțin caracteristică pentru aprecierea șiștăvirii.

2. Cu cît gradul de șiștăvire este mai accentuat, cu atît conținutul de proteine și de substanțe minerale este mai mare.

Din examinarea datelor noastre (tabela 1) se desprind următoarele concluzii:

a) Între gradul de șiștăvire și conținutul de amidon al boabelor de porumb există o relație bine definită, și anume: cu cît gradul de șiștăvire este mai mare, conținutul de amidon al boabelor este mai mic. În contradicție cu concluziile prof. Safta, datele obținute de noi arată deci că variația conținutului de amidon este caracteristică pentru aprecierea gradului de șiștăvire.

b) Cu cît gradul de șiștăvire este mai accentuat, conținutul de proteine al soiurilor și hibrizilor din subspecia *Indentata* este mai mare. Aceste concluzii ale noastre sînt în plin acord cu acelea ale prof. Safta. Observăm însă că diferențele dintre valorile proteice care indică această regularitate sînt mai accentuate și deci mai evidente în cazul datelor obținute de noi.

Tabela

Compoziţia chimică a unor soiuri şi a unor varietăţi de % în substan

Subspecia	Soiul sau varietatea	Substanţe proteice				Amidon			
		boabe				boabe			
		normale	şiştăvite		mici	normale	şiştăvite		mici
			gr. I	II			gr. I	II	
Indentata	*Pioneer 383*	10,91	12,18	13,14	11,46	62,06	61,69	60,71	64,65
	Minhibrid 511	11,21	11,56			63,73	63,13		
	ICAR 54	11,31	11,74	11,73		61,86	61,65	61,33	
Indurata	*M.D. 0213*	10,79	10,64			66,39	64,61		
Media		63,36	62,69	60,71	64,65	11,05	11,52	13,14	11,46

Creşterea conţinutului de proteine o dată cu creşterea gradului de şiştăvire nu este în legătură, după părerea noastră, cu repartizarea acestor substanţe în interiorul bobului, astfel cum crede prof. S a f t a. Această creştere apare, credem, ca un reflex al scăderii amidonului, al scăderii asimilaţiei. În adevăr, în măsura în care amidonul nu se mai poate acumula în bob, în aceeaşi măsură proporţia substanţelor proteice apare mai mare, ca o consecinţă logică a exprimării centezimale a compoziţiei chimice. De aici rezultă raportul de proporţionalitate inversă dintre conţinutul de substanţe proteice şi amidon, care reprezintă componentul principal al bobului.

c) Cu cît gradul de şiştăvire este mai accentuat, cu atît conţinutul de grăsime este mai mic. Excepţia ce se constată în cazul soiului *ICAR 54* este neconcludentă, fiind în limita erorilor de determinare.

d) Cu cît gradul de şiştăvire este mai accentuat, conţinutul de substanţe minerale este mai mare. Această concluzie este în acord cu aceea a prof. S a f t a. Observăm şi în acest caz că diferenţele dintre valorile ce exprimă această regularitate sînt mai accentuate şi deci mai evidente în cazul datelor obţinute de noi.

e) Cu cît gradul de şiştăvire este mai accentuat, conţinutul de celuloză este mai mare, ceea ce stă în legătură cu faptul că bobul este mai mic.

f) Regularităţile arătate la punctele *a*—*e*, care ne arată raporturile de proporţionalitate inversă dintre cantitatea amidonului, respectiv a grăsimii, şi de proporţionalitate directă dintre cantitatea proteinelor, cenuşei, celulozei şi gradul de şiştăvire, nu se mai regăsesc în cazul boabelor

1

porumb dublu hibrid normale și în diferite grade de șiștăvire
ță uscată

Grăsime				Cenușă				Celuloză			
boabe				boabe				boabe			
normale	șiștăvite		mici	normale	șiștăvite		mici	normale	șiștăvite		mici
	gr. I	II			gr. I	II			gr. I	II	
4,33	4,11	3,68	4,28	1,52	1,83	2,03	1,50	2,23	2,36	2,83	2,59
5,04	4,86										
4,36	4,61	4,47									
4,71	4,51										
4,61	4,50	4,07	4,28								

mici, după cum rezultă din compararea datelor înscrise în coloanele întîi și a patra din tabela 1, pentru diferitele componente chimice ale hibridului dublu *Pioneer 383*.

La boabele mici nu se mai manifestă regularitățile caracteristice șiștăvirii, conținutul de amidon fiind mai mare ca al boabelor normale.

Forma de știuleți mici, cu boabe mici și rotunde, considerată uneori drept aspect al șiștăvirii, apare din punctul de vedere al caracterelor chimice ca diferită de formele de șiștăvire. Apariția acestei forme reprezintă un fenomen de nutriție distinct de al șiștăvirii.

g) Regularitățile constatate mai sus în cazul hibrizilor dubli *Pioneer 383* și *Minhibrid 511* și al soiului *ICAR 54*, care toți aparțin subspeciei *Indentata*, nu se mai regăsesc în cazul hibridului dublu *M.D. 0213*, care aparține subspeciei *Indurata*. Într-adevăr, în cazul acestui ultim hibrid dublu, deși prin șiștăvire are loc o scădere a conținutului de amidon, în schimb conținutul de substanțe proteice nu crește, astfel cum se întîmplă în cazul porumburilor *Indentata* de mai sus. Fără a avea date suficiente pentru a trage o concluzie valabilă, această constatare ne face să presupunem fie că la subspecia *Indurata* șiștăvirea se produce în mod diferit sau nu a fost bine definită, fie că materialul studiat, fiind un corci *Indurata* × *Indentata*, să fi prezentat în același timp mai pregnant caracterele subspeciei *Indentata*, în general mai puțin proteică.

h) Mărimea modificărilor chimice provocate de șiștăvire diferă în cadrul subspeciei *Indentata* de la un soi sau un hibrid la altul. Aceste diferențe chimice între hibrizi par să se reflecte ca deosebiri corespunzătoare

în modul de manifestare exterioară a şiştăvirii. Astfel, de exemplu, hibridul *Pioneer 383*, care prezintă cele mai mari modificări ale compoziţiei chimice sub influenţa şiştăvirii, este caracterizat printr-un aspect de încreţire a boabelor mult mai pronunţat decît la hibridul dublu *Minhibrid 511* sau la soiul *ICAR 54*.

O altă serie de experienţe ne-au arătat că suspensiile în apă ale făinurilor provenite din boabe şiştăvite se depun mai greu decît acelea provenite din boabe normale. Această comportare arată că granulele de amidon ale boabelor şiştăvite sînt mai mici şi că prin şiştăvire se împiedică deci procesul de formare completă a granulelor de amidon, din care cauză conţinutul de amidon al porumbului şiştăvit este mai mic.

Cercetarea caracterelor biochimice ale porumbului şiştăvit ne-a arătat astfel că, pe măsură ce gradul de şiştăvire este mai mare, conţinutul de amidon şi grăsime scade, iar cel de proteine creşte. O atare modificare a compoziţiei chimice apare şi în cazul porumbului normal care încă nu a atins faza de maturitate (de coacere) deplină, după cum se poate vedea din tabela 2, unde este înscrisă pe de-o parte compoziţia chimică a porumbului în diferite grade de şiştăvire, determinată de noi, iar pe de altă parte, după G o l i k (cit. după [2]), compoziţia chimică a porumbului în diferite faze de coacere. Această compoziţie este exprimată, pentru diferitele grade de şiştăvire şi diferitele grade de coacere, în procente faţă de cantităţile de amidon, substanţe proteice şi grăsime conţinute în boabele normale, la maturitatea deplină.

Tabela 2

Compoziţia chimică în diferite faze de coacere şi pentru diferite grade de şiştăvire

Fazele de coacere (după G o l i k)	Proporţia (%)			Grade de şiştăvire
	Amidon	Substanţe proteice	Grăsime	
Maturitate deplină	100	100	100	
	100	100	100	boabe normale
Coacere „galbenă mijlocie"	94,0	116,0	85,0	
	95,8	111,0	95,0	boabe moderat şiştăvite
Coacere „galbenă timpurie"	93,9	126,0	86,0	
	94,0	120,0	84,1	boabe puternic şiştăvite
Coacere „în lapte tîrzie"	78,0	139,0	76,5	

Din examinarea datelor înscrise în tabela 2 rezultă că fenomenul şiştăvirii apare ca rezultatul unei întreruperi a afluxului de substanţe către bob ; cu cît această întrerupere are loc mai timpuriu, şiştăvirea care se produce este mai puternică, iar calitatea boabelor mai scăzută [3].

Din aceste date se desprinde astfel concluzia că șiștăvirea, care apare ca o dezvoltare incompletă a boabelor, nu este datorită unei acumulări defectuoase, mai puțin intense a substanțelor în bob, ci întreruperii la un moment dat a migrării substanțelor către boabe.

Cercetări ulterioare, efectuate pe un material experimental mai mare și mai complet, vor avea drept scop să arate dacă concluziile din prezenta lucrare au o largă generalitate.

INDICAȚII EXPERIMENTALE

Aprecierea șiștăvirii s-a făcut clasificîndu-se știuleții în trei categorii : știuleți practic normali, știuleți cu șiștăvire moderată (I) și știuleți cu șiștăvire puternică (II). Cu cît șiștăvirea este mai pronunțată, boabele au o dezvoltare mai mică, din care cauză valoarea greutății a 1 000 boabe este și ea mai mică. În cazul porumburilor cercetate de noi, valorile greutății a 1 000 boabe au fost următoarele (în grame) :

	Pioneer 383	*Minhibrid 511*	*ICAR 54*
Boabe normale	297,0	304,8	368,4
„ șiștăvite gr. I	262,2	230,9	287,9
„ „ gr. II	161,2	198,7	205,1

Determinările chimico-analitice s-au efectuat pe o probă medie din boabele a 5—7 știuleți, căutîndu-se ca știuleții din toate categoriile să fie cît mai asemănători ca dimensiuni și număr de boabe și, deci, să fi avut același potențial de dezvoltare a boabelor.

Probele pe care s-au făcut determinările aparțin recoltei anului 1960 și au fost luate din aceeași cultură, de la Dîlga.

Prezentată la redacție la 25 mai 1961

Institutul agronomic „N. Bălcescu", Catedra de biochimie, București

НЕКОТОРЫЕ БИОХИМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ЩУПЛОЙ КУКУРУЗЫ

РЕЗЮМЕ

Исследование биохимических характерисик щуплой кукурузы показало, что при большей степени щуплости зерно становится меньше и содержит меньше крахмала и жиров, тогда как содержание белков, минеральных веществ и целлюлозы возрастает. Подобное изменение химического состава отмечается и у нормальной кукурузы, если послед-

няя не достигла полной зрелости. Из этого следует, что явление щуплости является результатом перерыва в поступлении питательных веществ в зерно ; чем раньше происходит это прерывание, тем ярче выражена щуплость и тем хуже качество зерен.

У небольших зерен кукурузы (небольшие початки) не выявляется характерных для щуплости явлений; содержание крахмала в них больше, чем в нормальных зернах.

Явления, замеченные у разновидностей, принадлежащих подвиду Indentata, не встречаются у разновидностей, принадлежащих подвиду Indurata ; в последнем случае, по-видимому, их щуплость происходит несколько иначе.

Для одного и того же подвида значительность химических изменений, вызванных щуплостью, изменяется от сорта к сорту и от гибрида к гибриду.

CERTAINS CARACTÈRES BIOCHIMIQUES DU MAÏS ÉCHAUDÉ

RÉSUMÉ

Les recherches sur les caractères biochimiques du maïs échaudé ont montré que, au fur et à mesure que le degré d'échaudement s'accentue, la taille du grain diminue, la teneur en amidon et en graisse se réduit, tandis que la teneur en protéines, substances minérales et cellulose s'élève. Une telle modification de la composition chimique est également constatée, pour ce qui est du maïs normal, avant d'avoir atteint sa complète maturité. On en déduit que le phénomène d'échaudement est le résultat d'une interruption de l'afflux des substances vers le grain ; plus cette interruption est précoce, plus l'échaudement qui se produit est intense, et la qualité des grains est faible.

Les petits grains du maïs (des petites rafles) ne manifestent pas les régularités caractéristiques de l'échaudement, la teneur en amidon de ces grains étant plus élevée que celle des grains normaux.

Les régularités constatées chez les variétés de la sous-espèce *Indentata* ne se retrouvent plus chez une variété appartenant à la sous-espèce *Indurata*, où l'échaudement semble se produire d'une façon différente.

L'intensité des modifications chimiques provoquées par l'échaudement du grain diffère, dans le cadre de la même sous-espèce, d'une variété à l'autre ou d'un hybride à l'autre.

BIBLIOGRAFIE

1. I., Safta, St. Ilcevici, *Despre şiştăvirea boabelor de porumb*, Probleme agricole, *9*, 48 (1959).
2. * * * *Porumbul, studiu monografic*, Ed. Acad. R.P.R., Bucureşti, 1957.
3. N. Giosan, *Porumbul pentru siloz, o valoroasă plantă de nutreţ*, Probleme agricole, *4*, 11 (1960).

CONSTANTE BIOCHIMICE ÎN SÎNGELE EFERENT CEREBRAL, SPLENIC, HEPATIC ŞI RENAL, LA CÎINE

DE

N. MISON-CRIGHEL şi ELISABETA CONSTANTINESCU*)

Datele asupra compoziţiei biochimice a sîngelui de cîine, care prezintă o mare asemănare cu aceea a sîngelui uman [2], se referă de cele mai multe ori la sîngele venos, recoltat din vena safenă, mai rar la sîngele arterial.

Pentru cunoaşterea schimburilor metabolice din creier şi din alte organe, îndeosebi pentru urmărirea dinamicii unor procese metabolice în experiment cronic — cînd nu e posibilă recoltarea directă a ţesuturilor — s-au preconizat metode de recoltare a sîngelui din arterele şi din venele diferitelor organe.

Sîngele din sinusul sagital superior, vena renală, venele suprahepatice şi vena splenică poate reflecta mai fidel procesele biochimice produse în organele respective decît sîngele venos din circulaţia generală [7].

În literatură se găsesc destul de numeroase date privind constantele biochimice din sîngele cîinelui, dar numai rareori ele s-au determinat în număr mai mare la acelaşi animal.

Considerăm că pentru aprecierea corectă a diferitelor rezultate experimentale este util să se stabilească cît mai multe constante biochimice în sîngele cîinelui normal.

În acest scop am cercetat la cîini în stare de veghe compoziţia biochimică a sîngelui eferent cerebral şi cea a sîngelui venos şi arterial din circulaţia generală.

Recoltările de sînge au fost făcute la cîini în greutate de 7—12 kg după 16 ore de la ultima ingestie de hrană.

Pentru recoltarea sîngelui eferent cerebral în stare de veghe au fost elaborate două metode. S-a recoltat sînge din sinusul sagital superior, printr-o fistulă London, modificată de N. Marcovici [12]; aceasta consta din fixarea pe craniul cîinilor, pe traectul sinusului sagital su-

*) Ajutorul tehnic a fost dat de Leoveanu Constanţa şi Micu Gh.

perior, a unui şurub de dimetil-acrilat care pătrundea pînă la suprafaţa durei mater. Acest şurub avea un canal central care permitea abordarea în repetate rînduri a sinusului, fără anestezierea animalului. În unele cazuri am utilizat tehnica următoare [11] : se făcea numai o breşă osoasă la acest nivel, sub anestezie cu morfină, fără a se introduce şurubul de dimetil-acrilat, iar recoltările se făceau abia după cîteva zile. Dezavantajul acestei tehnici constă în faptul că înaintea fiecărei experienţe este necesară incizia pielii capului, după anestezia locală cu novocaină ; prezintă însă avantajul recoltării unei cantităţi mai mari de sînge, în stare de veghe.

Sîngele arterial a fost recoltat din artera femurală, iar sîngele venos din circulaţia generală prin puncţia venei safene (25 cîini).

Recoltarea sîngelui eferent hepatic, renal şi splenic a fost posibilă numai după anestezierea animalului. S-a ivit astfel necesitatea de a cerceta efectul diferitelor anestezice asupra constantelor biochimice din sîngele eferent cerebral, pentru a putea compara rezultatele obţinute cu cele din sîngele eferent al celorlalte organe, în aceleaşi condiţii. Sîngele eferent hepatic, renal şi splenic a fost prelevat prin puncţia venelor eferente respective după laparatomie, la animale anesteziate în prealabil cu : morfină (44 cîini), luminal (22 cîini) sau eter (10 cîini). Se făcea şi puncţia sinusului sagital superior în aceleaşi condiţii.

În cazul anesteziei cu morfină se injecta intramuscular 0,04 g morfină/kg corp, iar prelevările de sînge se făceau la 30 min după injecţie. La animalele anesteziate cu luminal sodic (0,05 g/kg corp) recoltarea se făcea de asemenea după 30 min.

S-au determinat în ser : potasiul, sodiul, calciul şi magneziul, fosforul anorganic, iar în sîngele total : fosforul acido-solubil, fosforul lipidic, fosforul anorganic şi A.T.P., glucoza, glicogenul, amilaza, acidul piruvic şi azotul aminic, cu metodele descrise în lucrări anterioare [8], [9], [10], [11], [13].

Din tabela 1 se vede că, la animalul neanesteziat, sîngele eferent cerebral prezintă diferenţe mici în concentraţia unora dintre compuşi faţă de sîngele arterial din circulaţia generală.

Astfel, în sinusul sagital superior am găsit pentru magneziu valori mai crescute, iar pentru fosforul anorganic, fosforul total acido-solubil, glicogen, acidul piruvic şi glucoză valori mai scăzute decît în sîngele din artera femurală. Aceste diferenţe nu sînt însă statistic semnificative. Dacă comparăm constantele din vena safenă cu cele din artera femurală, se observă că fosforul anorganic din sîngele total e uşor crescut în safenă faţă de artera femurală, iar fosforul acido-solubil şi glucoza scăzute. Aceste diferenţe nu sînt nici ele semnificative.

În tabela 2 sînt prezentate datele obţinute după 30 min de la anestezia cu morfină.

Anestezia cu morfină nu modifică semnificativ compoziţia sîngelui eferent al diferitelor organe, faţă de sîngele arterial al aceloraşi animale.

Dacă se compară compoziţia sîngelui arterial şi eferent al diferitelor organe cu sîngele arterial şi cu cel eferent cerebral al animalelor neanesteziate, nu se constată modificări semnificative ale potasiului, sodiului, calciului şi fosforului anorganic.

Sîngele eferent renal are un conținut mai mare de potasiu decît sîngele din artera femurală a animalului normal sau anesteziat cu morfină. Magneziul este semnificativ crescut după injecția de morfină în artera femurală, sinusul sagital superior, sîngele eferent renal și splenic; în sîngele eferent hepatic creșterea nu este semnificativă față de valorile din artera femurală și din sinusul sagital superior la animalul neanesteziat.

Creșterea potasiului și a magneziului după morfină determină modificări semnificative ale raportului K/Ca din vena renală și a raportului $\frac{K.Na}{Ca.Mg}$ în artera femurală și în sîngele eferent cerebral, hepatic, renal și splenic.

Acțiunea luminalului a fost cercetată numai în vena suprahepatică, iar a eterului numai în artera femurală și vena splenică. Luminalul determină o creștere semnificativă a sodiului și a magneziului din vena suprahepatică și o scădere a raportului $\frac{K.Na}{Ca.Mg}$ în comparație cu sîngele din artera femurală la animalele neanesteziate.

După anestezia cu eter potasiul este crescut în artera femurală și în vena splenică, față de sîngele din artera femurală a animalului neanesteziat.

Valorile constantelor biochimice determinate de noi în sîngele din circulația generală la animalul normal concordă cu cele din literatură și se apropie foarte mult de compoziția sîngelui uman [2].

Unii autori semnalează mici diferențe în concentrația unor constituenți în sîngele venos, în comparație cu cel arterial. Astfel, H. Bergman-Bethe [1] găsește la animal în sîngele venos din circulația generală ceva mai mult calciu și mai puțin sodiu decît în cel arterial.

Datele obținute de noi arată diferențe nesemnificative în conținutul unora dintre compușii studiați în sîngele arterei femurale și în vena safenă.

Sînt de remarcat diferențele A-V de $+1{,}3$ μ M/ml pentru glucoză și de $-0{,}15$ μM/ml pentru fosforul anorganic.

H. E. Himwich și E. B. Fazekas [4] au găsit la cîine o diferență arteriovenoasă pentru glucoză de 13,2 mg, cu 20% mai mult decît limita superioară găsită la om de diferiți autori.

R. Rodnight, H. McIlwain și M. A. Tresize [14] găsesc pentru glucoză, la iepure, o diferență arterio-venoasă de $+0{,}90\mu$ M/ml, pentru acidul lactic o diferență de $-0{,}15\mu$M/ml, comparînd sîngele eferent cerebral cu cel arterial auricular; pentru ceto-acizi (exprimați în acid piruvic) nu găsesc diferențe arterio-venoase.

Noi am găsit la cîinele neanesteziat, pentru glucoză, o diferență de $+0{,}43$ μM/ml între sîngele din artera femurală și cel din sinusul sagital superior. Pentru ceilalți compuși examinați diferențele arterio-venoase sînt și mai neînsemnate.

Aceste rezultate, deși nu se referă direct la sîngele aferent cerebral, ci la sîngele din artera femurală, concordă cu concluziile lui S. Kety [6] și M.C. Ilwain [5] asupra metabolismului general al creierului *in vivo*; după acești autori diferențe arterio-venoase cerebrale ar exista numai în ceea ce privește glucoza și unii metaboliți intermediari glucidici.

Tabela

Constante biochimice în serul sanguin recoltat

Condiția animalului	Recoltare din	K μM/ml	Na μM/ml	Ca μM/ml
Fără anestezie	artera femurală	(7) 3,7±0,4	(10) 140±10,4	(11) 2,3±0,07
	sinus sag. sup.	(12) 3,8±0,32	(17) 139±5,7	(25) 2,3±0,12
La 30 min de la injecția de morfină	artera femurală	(16) 3,9±0,6	(21) 151,5±9	(43) 2,30±0,08
	sinus sag. sup.	(15) 4,7±0,52	(17) 145±0,88	(44) 2,27±0,07
	vena supra-hepatică	(23) 3,3±0,34	(23) 150±2,2	(40) 2,45±0,05
	vena renală	(10) 5±0,09	(12) 138±0,58	(32) 2,35±0,04
	vena splenică	(15) 4,3±0,04	(15) 147±0,12	(36) 2,35±0,04
La 30 min de la luminal	vena supra-hepatică	(21) 3,9±0,26	(22) 170±7,8	(22) 2,4±0,05
Anestezic cu eter	artera femurală	(5) 5,8±0,5		(7) 2,46±0,014
	vena splenică	(8) 4,8±0,04		(10) 2,5±0,07

▣ – P < 0,05 față de artera femurală la animalul normal.

( ) – în paranteză numărul de animale.

Tabela

Constante biochimice în

Condiția animalului	Recoltare din	P anorganic μM/ml	P total acidosol μM/ml	P lipidic μM/ml	P total μM/ml	Hemoglobină %
Animalul normal	artera femurală	(4) 0,81±0,008	(4) 7,65±0,34	(4) 4,22±0,06	(4) 14,02±0,59	(3) 90,7±25
Fără anestezie	vena safenă	(16) 0,96±0,05	(16) 6,7±0,09	(7) 4,3±0,35	(7) 1,4±0,1	—
	sinus sag. sup.	(6) 0,77±0,66	(5) 7,0±0,10	(3) 4,40±0,6	(5) 14,43±1,5	(8) 97±3

1

de la ciinele normal sau anesteziat

Mg µM/ml	K/Ca	K/Mg	K.Na / Ca.Mg	P anorganic µM/ml
(4) 0,8±0,1	(8) 1,54±0,2	(3) 8,26±4,2	(3) 323±20	(14) 1,29±0,02
(23) 0,95±0,06	(12) 1,7±0,31	(12) 6,94±1,3	(10) 242±52	(25) 1,2±0,25
(22) 1,45±0,09	(17) 1,77±0,2	(5) 6,74±0,96	(5) 178±33	(27) 1,2±0,18
(39) 1,37±0,03	(15) 2,04±0,24	(14) 7,5±1,6	(14) 223±44	(22) 1,3±0,26
(36) 1,00±0,13	(21) 1,53±0,31	(19) 6,6±0,7	(19) 233±32	(19) 1,00±0,06
(28) 1,30±0,10	(12) 2.5±0,1	(12) 9,3±1,6	(10) 225±37	(14) 1,3±0,09
(33) 1,3±0,06	(14) 2,05±0,77	(14) 7,09±0,24	(13) 207±44	(16) 1,3±0,08
(22) 1,2±0,06	(21) 1,5±0,08	(21) 4,3±0,45	(19) 230±18	(22) 1,4±0,25

2

singele total de ciine

ATP µM/ml	Glicogen în echivalent de glucoză µM/ml	Amilază unități	Acid lactic µM/ml	Acid piruvic µM/ml	N aminic µM/ml	Glucoză µM/ml
(3) 0,5±0,2	(3) 2,09±0,62	(3) 1 092±355	(4) 3,8±0,9	(4) 0,096±0,0001	(3) 14,2±4,3	(4) 6,93±0,63
(9) 0,5±0,06	—	—	(16) 3,0±0,03	(16) 0,09±0,0004	—	(16) 5,6±0,03
(9) 0,47±0,06	(7) 1,43±0,13	(7) 968±245	(3) 3,8±0,32	(3) 0,080±0,002	(8) 11±0,6	(3) 6,5±0,00

Datele noastre arată că morfina nu schimbă diferenţa arterio-venoasă între sîngele arterial general şi sîngele eferent cerebral sau al diferitelor organe.

Modificările marcate observate de noi în ceea ce priveşte conţinutul în magneziu, care sînt în acelaşi sens ca şi după anestezie cu luminal, se produc la 30 min după injecţia cu anestezicul respectiv, atît în sîngele arterial cît şi în cel venos de întoarcere din organe. De aceste observaţii, precum şi de modificările semnificative ale potasiului în vena renală după anestezia cu morfină şi în vena splenică după anestezia cu eter, trebuie ţinut seama în experimentele în care este necesară anestezierea cîinelui.

CONCLUZII

1. În sîngele eferent cerebral, la cîine, concentraţia diferiţilor compuşi biochimici este foarte apropiată de cea a sîngelui arterial, ceea ce denotă că trecerea sîngelui prin creier nu aduce modificări importante. Diferenţe în concentraţia arteriovenoasă se găsesc numai la glucoză şi unii compuşi legaţi de metabolismul glucidic.

2. Anestezia cu morfină şi luminal nu modifică raportul de concentraţie dintre sîngele eferent cerebral şi sîngele arterial.

3. Morfina determină la 30 min după injecţie, atît în sîngele arterial cît şi în sîngele de întoarcere din creier, ficat, splină, rinichi, o creştere a magneziului.

4. Luminalul determină o creştere a magneziului în vena suprahepatică şi a potasiului în vena renală, iar eterul face să crească potasiul în artera femurală şi în vena splenică.

Prezentată la redacţie la 12 mai 1961

Institutul de neurologie „I. P. Pavlov", Bucureşti

БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОСТОЯННЫЕ В ЭФФЕРЕНТНОЙ КРОВИ МОЗГА, СЕЛЕЗЕНКИ, ПЕЧЕНИ И ПОЧЕК СОБАКИ

РЕЗЮМЕ

Авторы определяли у собаки некоторые биохимические постоянные в эфферентной крови мозга, взятой из верхнего сагиттального синуса, которую сравнивали с артериальной и венозной кровью общего кровообращения. Не было отмечено значительных различий между венозной мозговой кровью и артериальной кровью общего кровообращения.

Авторы изучили влияние морфия, люминала и эфира на химический состав крови общего кровообращения, а также афферентной

крови мозга, печени, селезенки и почек. Морфий и люминал вызывают возрастание содержания магния в эфферентной крови всех органов, а эфир — увеличение содержания калия в селезеночнойвене и бедренной артерии.

CONSTANTES BIOCHIMIQUES DU SANG EFFÉRENT CÉRÉBRAL, SPLÉNIQUE, HÉPATIQUE ET RÉNAL, CHEZ LE CHIEN

RÉSUMÉ

On a déterminé, chez le chien, certaines constantes biochimiques dans le sang efférent cérébral, prélevé du sinus sagittal supérieur et comparé ensuite avec le sang artériel et veineux de la circulation générale. On n'a pas trouvé de différences significatives entre le sang veineux cérébral et le sang artériel de la circulation générale.

On a étudié l'action de la morphine, celle du luminal et de l'éther sur la composition chimique du sang de la circulation générale et sur celle du sang efférent, cérébral, hépatique, splénique et rénal. La morphine et le luminal déterminent une élévation du taux du magnésium dans le sang efférent de tous les organes et l'éther, une élévation du taux du potassium dans le sang de la veine splénique et de l'artère fémorale.

BIBLIOGRAFIE

1. Bethe-Bergman H., *Handbuch der normalen und pathologischen Physiologie*, Springer Verlag, 1928, **6**, *1*, 486.
2. Carr Marie H., Schloerb P.R. J. Lab. Clin. med., **53**, 606–652 (1959).
3. Cicardo H., *P*hysiol. Reviews, **32**, Suppl. 1, 64 (1952).
4. Himwich H. E., Fazekas E. D., Endocrinology, **21**, 800 (1957).
5. Mc Ilwain H., *Biochemistry and the central nervous system*, Ed. J. A. Churchill, Liet, London, 1955, cap. 3.
6. Kety S., în *The metabolism of the nervous system*, Ed. Richter D., Pergamon Press, London, 1957, cap. II.
7. Kreindler A., *Epilepsia*, Ed. Acad. R.P.R., 1955, 297–303.
8. Mison-Crighel Nella, Studii cercet. de neurol., II, *1*, 107–115 (1957).
9. Mison-Crighel Nella, Lascăr Elisabeta, Studii cercet. fiziologice şi neurologice, **VI**, *3–4*, 373–426 (1955).
10. Mison-Crighel Nella, Costa-Foru Doroteia, Anghelescu A., Studii cercet. de neurol. **IV**, *2*, 239–250 (1959).
11. Mison-Crighel Nella, Lascăr-Constantinescu Elisabeta, Luca Noemi, Costa-Foru Doroteia, Studii cercet. de neurol., **III**, *4*, 415–429 (1958).
12. Marcovici N., Com Acad. R.P.R., secţ. ştiinţ. med., **IV**, *3–4*, 167–169 (1954).
13. Pintilie C., Lascăr Elisabeta, Com. Acad. R.P.R., **V**, *3*, 581–590 (1955).
14. Rodnight R., Ilwain H. Mc, Tresize M. A., J. of Neurochemistry **3**, 209–218 (1959).

ACȚIUNEA IMIPRAMINEI ASUPRA ACTIVITĂȚII GLUCOZO-DEHIDROGENAZEI ȘI A CITOCROMULUI c DIN OMOGENATUL DE CREIER DE ȘOBOLAN

DE

C. MARCU. V. STROESCU și RITTA SCHWARTZ

Imipramina este un derivat iminodibenzilic introdus în ultimul timp în terapeutică pentru efectele sale antidepresive [4]. Structura chimică a imipraminei este apropiată de aceea a clorpromazinei, dar acțiunile ei farmacodinamice sînt deosebite. Astfel, dacă clorpromazina are efecte deprimante de tip neuroplegic, imipramina are, la animale, efecte complexe de deprimare și stimulare, iar la om stimulează funcțiile psihice deprimate [4], [2], [8], [6].

Într-o lucrare anterioară am studiat acțiunea imipraminei *in vitro* și *in vivo* asupra oxidării glucozei de către creierul de șobolan. Substanța micșorează oxidarea glucozei cînd este adăugată omogenatului de creier, dar nu o modifică atunci cînd este injectată animalului [5]. În lucrarea de față am continuat studierea acțiunii imipraminei asupra metabolismului cerebral, cercetînd activitatea substanței asupra glucozo-dehidrogenazei și a citocromului c din omogenatul de creier.

METODĂ

Am determinat activitatea glucozo-dehidrogenazei prin metoda Thunberg. Ca preparat enzimatic am folosit omogenatul de creier de șobolan. Probele au fost constituite din 2 ml soluție de glucoză 0,1 M, 0,2 ml soluție de albastru de metilen 0,01 M, 0,2 ml soluție de cianură de sodiu 0,1 M, 1 ml omogenat de creier și 1,6 ml apă distilată (pentru completarea volumului la 5 ml). În cazul cercetării *in vitro* am adăugat în eprubete (păstrînd volumul), soluție de imipramină (preparatul Tofranil Geigy) în cantitatea necesară pentru o concentrație finală de 0,1 mg/ml, 0,5 mg/ml și 1 mg/ml (în exprimare molară aproximativ 3.10^{-4}, 8.10^{-4}

şi 3.10^{-3} M). Pentru studiul *in vivo* am utilizat şobolani cărora li s-a injectat în prealabil imipramină 5 mg/kg şi 50 mg/kg subcutanat şi li s-a prelevat creierul la o oră după injectare.

Am determinat activitatea citocromului c folosind ca preparat enzimatic omogenatul de creier de şobolan, iar ca substrat oxidat specific de către citocromul c, *p*-fenilendiamina (Iwao Jamamoto şi colaboratori). Am determinat consumul de oxigen necesar oxidării *p*-fenilendiaminei de către citocromul c din broaiajul de creier, utilizînd metoda Warburg. Experimentele au fost făcute fie pe creier la care s-a adăugat imipramină, fie pe creier provenit de la şobolani cărora li s-a injectat imipramină. Pentru determinările privind acţiunea imipraminei *in vitro* fiecare cupă Warburg conţinea 1 ml de omogenat de creier, 0,5 ml soluţie de imipramină în Ringer-fosfaţi, iar în diverticolul lateral 0,5 ml soluţie de *p*-fenilendiamină 0,1 M în Ringer. Concentraţia finală a imipraminei o fost de 0,1 mg/ml 0,05 mg/ml şi 1 mg/ml. Soluţia de *p*-fenilendiamină a fost răsturnată în cupe la începutul determinării. Pentru cercetarea acţiunii imipraminei *in vivo* am utilizat omogenat de creier provenit de la şobolani injectaţi cu o oră înainte de decapitare cu imipramină 5 şi 50 mg/kg subcutanat. Preparatele au fost incubate la 37°C.

Am folosit şobolani în greutate medie de 150 g. Am făcut în general cîte 10 determinări pentru fiecare probă. Rezultatele au fost prelucrate statistic.

REZULTATE

Imipramina, adăugată preparatului enzimatic în tuburile Thunberg, în concentraţii de 0,1 şi 0,5 mg/ml, nu modifică practic activitatea glucozo-dehidrogenazei. În concentraţie de 1 mg/ml, inhibă aproape total activitatea glucozo-dehidrogenazei. Astfel, dacă la martor decolorarea soluţiei de albastru de metilen se face după 3,10 ($\pm$1,07) min, în prezenţa imipraminei această decolorare se face după 52 ($\pm$ 3,5) min (tabela 1),

Imipramina, injectată şobolanilor în doză de 5 şi 50 mg/kg subcutanat, nu modifică practic de loc activitatea glucozo-dehidrogenazei (tabela 1).

Tabela 1

Acţiunea imipraminei asupra glucozo-dehidrogenazei

Timp necesar decolorării soluţiei de albastru de metilen sub influenţa glucozo-dehidrogenazei (în minute)

Imipramina *in vitro*				Imipramina injectată		
Martor	Imp. 0,1 mg/ml	Imp. 0,5 mg/ml	Imp. 1 mg/ml	Martor	Imp. 5 mg/kg	Imp. 50 mg/kg
3,10 $\pm$1,07	2,83 $\pm$1,13	3,3 $\pm$0,25	52 $\pm$3,5	3,10 $\pm$1,07	3,3 $\pm$0,2	3,4 $\pm$1,0

Omogenatul de creier consumă în timp de o oră, pentru a oxida *p*-fenilendiamina cu ajutorul citocromului c, în medie 11,06 ($\pm$ 0,91), mm^3 oxigen la 1 mg reziduu uscat. Cea mai mare parte din *p*-fenilendiamină este oxidată în primele 45 min. Imipramina adăugată omogenatului de creier deprimă activitatea citocromului c în medie cu 23 % pentru concentrația de 0,1 mg/ml, cu 34,7% pentru concentrația de 0,5 mg/ml și cu 56,4% pentru concentrația de 1 mg/ml. Deprimarea procentuală este aproximativ egală în perioadele de cîte 15 min la care s-au făcut citirile (tabela 2).

Creierul șobolanilor injectați cu imipramină în doze de 5 mg/kg și 50 mg/kg oxidează *p*-fenilendiamina practic asemănător cu creierul martor (tabela 2).

Tabela 2

Acțiunea imipraminei asupra citocromului c

Consum de oxigen pentru oxidarea *p*-fenilendiaminei, exprimat în mm^3 oxigen/mg reziduu uscat în timp de 60 min — citiri la 15 min

Timpul min	Imipramina *in vitro*				Imipramina injectată			
	Martor	Imp. 0,1 mg/ml	Imp. 0,5 mg/ml	Imp. 1 mg/ml	Martor	Imp. 5 mg/kg	Martor	Imp. 50 mg/kg
15	4,8	4,38	3,45	1,62	3,6	3,4	3,7	3,56
30	7,98	7,27	5,54	2,79	6,3	6,8	6,85	6,6
45	9,86	9,36	6,03	3,82	8,3	8,9	8,9	9,5
60	11,06	11,81	7,23	4,82	10,2	10,0	10,06	10,29

DISCUȚII

Cercetările biochimice făcute în ultima vreme au arătat că substanțele cu acțiune neuroplegică, de felul clorpromazinei, nu influențează practic de loc faza catabolică oxidativă a metabolismului celulelor cerebrale, [1], [10], [7], [9].

În lucrarea de față am cercetat acțiunea imipraminei, substanță cu efecte centrale deosebit de interesante, asupra a două sisteme enzimatice importante ale metabolismului celulelor cerebrale : glucozo-dehidrogenaza și citocromul c.

Imipramina, *in vitro*, nu deprimă activitatea glucozo-dehidrogenazei (și probabil nici pe aceea a difosfopiridinnucletidului, factor activant al acestei enzime) decît la concentrații mari, de 1 mg/ml. *In vivo*, substanța nu influențează activitatea glucozodehidrogenazei, chiar la doze mari, de 50 mg/kg.

Imipramina, *in vitro*, acționează deprimant asupra citocromului c, chiar în concentrații relativ mici, fiind în această privință ceva mai activă decît clorpromazina (Gheorghiu și colaboratori). Activitatea citocromului c

nu este însă complet inhibată de imipramină nici la concentraţii mari, de 1 mg/ml. Administrată şobolanilor, deci acţionînd *in vivo*, imipramina nu modifică practic activitatea citocromului c în omogenatul de creier la dozele de 5 şi 50 mg/kg.

Din cele de mai sus rezultă că imipramina are o slabă acţiune deprimantă asupra glucozo-dehidrogenazei şi este ceva mai activ deprimantă a activităţii citocromului c. *In vivo* substanţa nu influenţează glucozo-dehidrogenaza şi citocromul c. Faptul că imipramina deprimă sistemele enzimatice arătate *in vitro* şi nu le modifică *in vivo*, se datoreşte, foarte probabil, utilizării *in vitro* de concentraţii care le depăşesc pe cele atinse în creier prin injectarea subcutanată a substanţei, chiar în doze mari. O altă dovadă că imipramina nu acţionează prin interferare cu activitatea glucozo-dehidrogenazei şi a citocromului c este faptul că substanţa are asupra acestor sisteme enzimatice numai efecte deprimante, pe cînd efectele asupra sistemului nervos central sînt complexe, de deprimare şi de stimulare.

Atît glucozo-dehidrogenaza cît şi citocromul c intervin în cadrul proceselor catabolice celulare producătoare de energie. Lipsa de acţiune a imipraminei *in vivo* asupra acestor două enzime este un argument în favoarea ipotezei că substanţele psihotrope de acest tip nu acţionează la nivelul fazei catabolice formatoare de energie. Bineînţeles că nu este exclusă posibilitatea intervenţiei imipraminei asupra altor verigi ale proceselor catabolice oxidative. Avînd însă în vedere că nici procesul global de oxidare a glucozei nu este modificat prin acţiunea substanţei, considerăm mai probabil că efectele imipraminei sînt datorite acţiunii sale asupra fazei metabolice de depozitare şi de eliberare a energiei sau chiar asupra fazei de utilizare a energiei de către celulele nervoase.

CONCLUZII

1. Imipramina, *in vitro*, deprimă slab activitatea glucozo-dehidrogenazei şi ceva mai puternic activitatea citocromului c.

2. Imipramina, *in vivo*, nu modifică practic activitatea glucozo-dehidrogenazei şi a citocromului c.

3. Este probabil că efectele centrale ale imipraminei nu se datoresc acţiunii substanţei asupra proceselor catabolice oxidative din celulele cerebrale.

Prezentată la redacţie la 18 iulie 1961

Laboratorul de farmacologie I.M.F., Bucureşti

ДЕЙСТВИЕ ИМИПРАМИНА НА АКТИВНОСТЬ ГЛЮКОЗОДЕГИДРОГЕНАЗЫ И ЦИТОХРОМА c ИЗ ИЗМЕЛЬЧЕННОГО МОЗГА КРЫСЫ

РЕЗЮМЕ

Авторы исследовали действие имипрамина на глюкозодегидрогеназу, применяя метод Тунберга и используя измельченный мозг крысы как энзиматический препарат. В данных условиях добавленный к измельченному мозгу имипрамин мало ослабляет активность глюкозодегидрогеназы; при введении имипрамина крысам путем инъекций он не оказывает никакого практического действия.

Было определено действие имипрамина на цитохром С в аппарате Варбурга, используя измельченный мозг крысы как энзиматический препарат, а как субстрат, специфически окисляемый цитохромом С, — р-фенилендиамин. In vitro имипрамин сравнительно сильно ослабляет активность цитохрома С, но не оказывает на нее никакого влияния, при впрыскивании его крысам.

Вероятно, центральные воздействия имипрамина вызваны влиянием данного вещества на окислительные процессы нервных клеток.

ACTION DE L'IMIPRAMINE SUR L'ACTIVITÉ DE LA GLUCO-DÉSHYDROGÉNASE ET DU CYTOCHROME c DU BROYAT DE CERVEAU DE RAT

RÉSUMÉ

On a étudié l'action de l'imipramine sur la gluco-déshydrogénase par la méthode de Thunberg, en utilisant comme préparation enzymatique un broyat de cerveau de rat. Dans ces conditions, l'imipramine ajoutée au broyat de cerveau, déprime faiblement l'activité de la gluco-déshydrogénase, tandis que, administrée en injection chez le rat, elle ne modifie pratiquement pas cette activité.

On a déterminé l'action de l'imipramine sur le citochrome c à l'aide de l'appareil de Warburg, en utilisant comme préparation enzymatique le broyat du cerveau de rat, et, comme substratum oxydé spécifique pour le cytochrome c, la *p*-phénylènediamine. L'imipramine exerce *in vitro* une action de dépression relativement marquée de l'activité du cytochrome c, mais, injectée au rat, elle ne modifie pas cette activité.

Il est probable que les effets centraux de l'imipramine ne sont pas dus à l'action que cette substance exerce sur les processus oxydatifs des cellules nerveuses.

BIBLIOGRAFIE

1. Dbokin A., Gilbert E., Lamoureux L., Anesthesia, **9**, 157 (1954).
2. Domnjoz R., Theobald W., Arch. internat. Pharmacodyn., **120**, 450 (1959).
3. Gheorghiu P., Schwartz Ritta, Stroescu V., A 6-a sesiune ştiinţifică a I.M.F., Bucureşti, 18—19 noiembrie, 1960.
4. Kuhn R., J. Suisse Medecine, **89**, 1135 (1959).
5. Marcu C., Stroescu V., Schwartz Ritta, Studii şi cercetări de fiziologie, **4**, 679 (1960).
6. Metter W. G., Owens H., Himwich H. E., Canad. psych. Assoc. J., **4**, supl. 113 (1959).
7. Щелобанова И.Н., [în] *Данные по фармакологии и клиника производных фенотиазиного ряда*, Москва, 1958, 161.
8. Sigg E. B., Canad. psych. Assoc. J., **4**, supl. 75 (1959).
9. Stroescu V., Conf. nat., fiziologie, Bucureşti, Ed. Acad. R.P.R., p. 148 (rezumat).
10. Teitel A., Shwartz Ritta, Stroescu, V., A 5-a sesiune ştiinţifică a I.M.F., Bucureşti, 1959, p. 46 (rezumat).

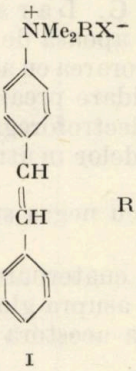
INTERACȚIUNEA UNOR SUBSTANȚE CURARIZANTE FLUORESCENTE CU PROTEINELE SERICE

DE

HORST D. SCHELL

Importanța grupării cuaternare de amoniu pentru compușii organici capabili să producă blocarea transmisiei neuro-musculare la nivelul plăcii motorii este cunoscută. În literatura de specialitate se acordă însă o importanță din ce în ce mai mare și părții lipofile a moleculei care ar putea influența atît intensitatea activității produsului, cît și mecanismul lui de acțiune [5], [2], [7], [13].

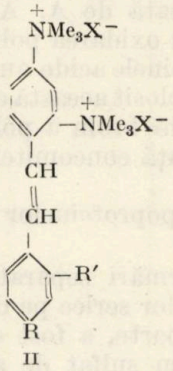
Pentru a urmări, în funcție de gradul lor de lipofilie, interacțiunea substanțelor curarizante cu proteinele serice și cu cele musculare, acad. E. Macovschi ne-a propus prepararea unor săruri cuaternare de amoniu cu grade diferite de lipofilie, derivate de la stilben și aceasta cu atît mai mult cu cît nu era exclus ca unii dintre acești derivați să fie fluorescenți, ceea ce ar înlesni și studierea unor aspecte legate de vehicularea



I

$R = CH_3, C_2H_5, C_4H_9, C_8H_{17}, C_{16}H_{33}$

$X^- = I^-, Cl^-$



II

$R = H, CH_3, OCH_3$; $R = H$

$R' = H$ $R' = OCH_3$

$X^- = I^-, Cl^-$

în sînge și localizarea în mușchi ale acestora. Într-adevăr, produșii obținuți de tipul I unde lipofilia a fost variată la nivelul grupării cuaternare de amoniu și cei de tipul II unde lipofilia a fost modificată prin schimbări

în restul moleculei, produși care au fost descriși într-o lucrare anterioară [12] posedă în lumina ultravioletă o fluorescență albastră.

În lucrarea de față ne-am propus să studiem interacțiunea acestor săruri cuaternare de amoniu fluorescente cu proteinele serului normal de om, precum și cu unele seruri provenite de la animale situate pe trepte diferite ale scării filogenetice.

MATERIAL ȘI METODE

Peste un volum anumit de ser normal de om (0,5—1 ml) se adaugă aceeași cantitate dintr-o soluție 1% de clorură de 4-dimetil-alchil-amoniu-stilben, se agită și se lasă să stea 30—60 min la 37°C (baia de apă) împreună cu o altă probă care servește drept martor și în care s-a adăugat în locul soluției sării cuaternare de amoniu apă distilată tot în raport de 1 : 1. Apoi se centrifughează timp de 5 min la 3 500 ture/min pentru depunerea completă a flocoanelor formate. Supernatantul este supus apoi electroforezei pe hîrtie.

Analizele electroforetice s-au efectuat în soluție tampon veronal-veronal sodiu de pH 8,6, forța ionică = 0,05 și în următoarele condiții de migrare : tensiunea 8 V/cm, intensitatea 0,3 mA/cm, durata 9 ore, temperatura +18°C ; s-au folosit benzi din hîrtie Whatman nr. 1, de 3—4 cm lățime. Cantitatea supernatantului aplicată pe benzile destinate cercetării proteinelor și glucoproteinelor era de 15 mm^3, iar la benzile rezervate cercetării lipoproteinelor de 30 mm^3.

Pentru revelarea proteinelor s-a folosit colorația cu albastru de bromfenol după metoda citată de S. M. Idu și S. Cîmpeanu [4]. Pentru aprecieri cantitative s-au făcut în unele cazuri și determinări cantitative prin metoda eluțiilor și colorimetrare la fotometrul Pulfrich (cuva cu d = 0,5 ; filtru λ = 533 mm).

Revelarea glucoproteinelor neutre s-a făcut prin colorare cu reactivul Schiff după tehnica indicată de A. A. Titaev și E. G. Larskii [15], folosind însă pentru oxidarea polizaharidelor o soluție apoasă de acid periodic [11]. Glucoproteinele acide au fost revelate prin colorarea cu albastru de toluidină [1]. S-a folosit această colorație și după o oxidare prealabilă cu acid periodic și apă de brom a polizaharidelor de pe electroforegrame pentru punerea în evidență concomitentă atît a polizaharidelor neutre cît și a celor acide.

Pentru revelarea lipoproteinelor s-a folosit colorația cu negru sudan B [14].

În scopul de a urmări separat acțiunea sărurilor cuaternare de amoniu asupra albuminelor serice pe de-o parte, precum și asupra globulinelor serice pe de altă parte, a fost efectuată și separarea acestora prin precipitare fracționată cu sulfat de amoniu.

Pentru a urmări influența concentrației soluției sării cuaternare de amoniu folosite, s-a lucrat pe lîngă concentrația de 1% și cu concentrații cuprinse între 0,01—5% (0,01 ; 0,02 ; 0,05 ; 0,1 ; 0,5 ; 1 ; 2 ; 3 ; 4 și 5%)

notîndu-se schimbările observate în eprubetă în urma adăugării soluției sării cuaternare de amoniu după 5 min, după 60 min la 37°C, după centrifugare și după un repaus de 24 ore la frigider.

Întrucît era interesant de aflat dacă cele constatate pentru serurile normale de om sînt valabile și pentru alte seruri din scara animală, s-au extins cercetările și asupra serurilor de broască, porumbel, șobolan și iepure.

În sfîrșit, pentru a vedea în ce măsură sînt valabile și pentru alte substanțe curarizante cele observate în cazul derivaților fluorescenți de la stilben de tipul I, s-a mai cercetat și interacțiunea d-tubocurarinei, iodurii de trimetil-octil-amoniu, succinilcolinei, decametoniului și a derivaților stilbenici de tipul II cu serurile sangvine normale.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Adăugarea soluției clorurii de 4-trimetil-amoniu-stilben 1% la un ser normal produce chiar în primele momente o slabă tulbureală, care este urmată de o separare de flocoane foarte fine ce cu timpul se depun. Supunînd supernatantul centrifugat și perfect limpede electroforezei pe hîrtie, se constată față de martor o absență completă a fracțiunii α_1-globulinice. După cum rezultă din determinările cantitative efectuate, celelalte fracțiuni proteice ale serului nu prezintă nici un fel de modificări decelabile cu ajutorul metodei electroforezei pe hîrtie, adică nu se constată schimbări în viteza lor de migrare și nici schimbări în concentrația lor relativă (fig. 1 *a*). În cursul electroforezei sarea cuaternară fluorescentă amestecată cu serul, se separă complet de proteinele serice migrînd spre catod, în timp ce acestea se deplasează spre anod.

Depozitul obținut în urma centrifugării serului tratat cu sarea cuaternară de amoniu, are un aspect albicios, amorf, brînzos. Spălîndu-l de repetate ori cu apă distilată și centrifugîndu-l de fiecare dată din nou pînă la îndepărtarea completă a urmelor proteice și a sării cuaternare de amoniu din supernatant, se constată că se colorează puternic cu albastru de bromfenol, ceea ce înseamnă că este de natură proteică. Se constată de asemenea că acest depozit prezintă în lumina ultravioletă o puternică fluorescență albastră, similară cu cea de la sarea cuaternară de amoniu adăugată. Întrucît nu se mai poate pune problema unei eventuale impurificări, ținînd seama de repetatele spălări, înseamnă că sarea cuaternară de amoniu s-a legat de această fracțiune proteică fără să-și piardă fluorescența, formînd un complex: proteină — sare cuaternară de amoniu. Complexul format este stabil, nu se dizolvă în soluții saline, în soluții cu pH alcalin ridicat arată o tendință de dizolvare parțială.

Rezultatele obținute la tratarea separată a albuminelor serice, precum și a globulinelor serice cu soluția sării cuaternare de amoniu confirmă cele constatate, în sensul că formarea complexului are loc numai în cazul tratării globulinelor, și anume cu fracțiunea α_1-globulinică, în timp ce în

cazul tratării albuminelor nu se observă, față de serul martor, schimbări nici în eprubetă cu ocazia adăugării sării cuaternare și nici pe electroforegramele obținute.

Glucidogramele (fig. 1 *b*) obținute fie prin colorarea p. a.Schiff (polizaharidele neutre), fie prin folosirea coloratiei cu albastru de toluidină (polizaharidele acide sau neutre + acide în urma unei oxidări mai puternice) nu dau indicații suplimentare ; se constată și în acest caz lipsa fracțiunii de la nivelul α_1 -globulinelor.

În cazul lipidogramelor obținute din supernatantul serului tratat se constată doar un spot slab rămas pe linia de start.

Experiențele efectuate cu soluții de concentrații diferite de săruri cuaternare de amoniu, au arătat că concentrația soluției folosite joacă un rol important în formarea complexului. Cum rezultă din tabela 1, la o concentrație de 0,05% începe o slabă tulburare a serului ; la 0,1% începe separarea în cantitate mică de flocoane fine, ca apoi, pentru o concentrație de 1%, să se obțină cantitatea maximă de precipitat. Mărind concentrația la 2%, 3% pînă la 5%, cantitatea precipitatului ce se formează începe să se micșoreze, să se redizolve și să dispară în cele din urmă aproape complet, serul devenind în același timp opalescent, aspect pe care îl menține și după o centrifugare îndelungată. Cercetînd electroforegramele obținute din supernatantele acestor game de concentrații (fig. 2 *a*) se constată, în cazul proteinogramelor, următoarele : la o concentrație de 0,5% începe o diminuare netă a fracțiunii α_1-globulinice, fracțiune care dispare complet la o concentrație de 1%. Începînd cu concentrația de 2%, adică atunci cînd cantitatea complexului se micșorează și supernatantul devine opalescent, proteinogramele capătă un aspect din ce în ce mai difuz rămînînd, bine distincte doar fracțiunile β- și γ-globulinică pînă la o concentrație de 5%. Cu creșterea concentrației soluției sării cuaternare de amoniu, se constată de asemenea o slăbire progresivă a intensității spotului corespunzător albuminelor, precum și o rămînere pe linia de start a unei cantități din ce în ce mai crescută de proteine. Această rămînere pe start se datorește, foarte probabil, neutralizării unui număr mai mare sau mai mic din sarcinile negative ale proteinei de excesul sării cuaternare de amoniu, cu formare de complecși solubili ; fluorescența pe care o prezintă spotul rămas pe linia de start vine în sprijinul acestei afirmații.

Întrucît aspectul proteinogramelor prezenta o modificare bruscă între concentrațiile corespunzătoare la 1% și 2%, s-a lucrat și cu concentrațiile intermediare de 1,25 ; 1,50 și 1,75% pentru a surprinde fazele intermediare de trecere (fig. 2 *b*). Și într-adevăr se constată că pe măsură ce concentrațiile se îndepărtează de 1% și pe măsură ce cantitatea complexului scade, are loc o reapariție treptată a fracțunii α_1-globulinice care însă la o concentrație de 2% și mai mare, din cauza unor schimbări mai profunde ce își găsesc expresia în aspectul difuz al electroforegramei, nu mai poate fi decelată.

Tabela 1

Influenţa concentraţiei soluţiei sării cuaternare de amoniu (clorură de 4-trimetil-amoniu-stilben) asupra formării complexului cu α_1 -globulinele serice

Nr. crt.	Concentraţia soluţiei %	Schimbările observate la serul uman normal tratat cu soluţia sării cuaternare de amoniu (în proporţie de 1 : 1)			
		după 5 min	după 60 min la 37°C	după centrifugare	după 24 ore la 0°C
1	0,01	nici o schimbare	nici o schimbare	nici o schimbare	nu se schimbă aspectul la nici o probă faţă de cel obţinut după centrifugare
2	0,02	,, ,, ,,	,, ,, ,,	,, ,, ,,	
3	0,05	,, ,, ,,	foarte slab tulbure	,, ,, ,,	
4	0,1	foarte slab tulbure	flocoane fine în suspensie	foarte slab sediment, supernatant limpede	
5	0,5	slab tulbure	sediment slab, supernatant tendinţă de limpezire	sediment slab, supernatant limpede	
6	1	flocoane fine în suspensie	sediment abundent, supernatant tendinţă de limpezire	sediment abundent, supernatant limpede	
7	2	flocoane în suspensie opalescentă	sediment slab, supernatant opalescent	sediment slab, supernatant opalescent	
8	3	flocoane fine în suspensie opalescentă	flocoane fine în suspensie opalescentă	sediment slab, supernatant opalescent	
9	4	opalescent	opalescent	foarte slab sediment, supernatant opalescent	
10	5	foarte slab opalescent	slab opalescent	sediment în urme, supernatant opalescent	

Trecerea în soluție a complexului o dată cu creșterea concentrației soluției de clorură de 4-trimetil-amoniu-stilben, fenomen observat de altfel și la complecșii dintre proteine și unele săpunuri anionice [10], [8] și cationice [9] s-ar putea explica ca și în aceste cazuri, fie printr-o deformare a moleculei proteice în sensul unei desfășurări cu eliberare de noi grupări hidrofile, sub acțiunea concentrației ridicate a sării cuaternare de amoniu, fie prin faptul că sarea cuaternară adăugată în exces se orientează datorită forțelor Van der Waals cu părțile sale lipofile spre suprafețele hidrofobe ale complexului, îndreptîndu-și în același timp grupările sale hidrofile spre faza apoasă, ceea ce duce la solubilizarea complexului sau fie chiar prin ambele procese ce pot avea loc concomitent. Aspectul difuz al electroforegramelor, rămînerea unei cantități de proteine din ce în ce mai crescute pe linia de start se datorește fără îndoială schimbărilor intervenite la nivelul sarcinilor electrice ale proteinelor serice, căci este bine știut că unul dintre factorii hotărîtori în determinarea comportării electroforetice a unui produs este prezentat tocmai de încărcătura sa electrică.

Lipidogramele obținute arată o slăbire a β-lipoproteinelor începînd cu o concentrație de 0,05%, apoi și o slăbire a α-lipoproteinelor, ca la o concentrație de 0,5% să mai existe doar un spot slab pe linia de start. O comportare similară a lipoproteinelor a fost observată de R. Mora și colaboratori [6] și în cazul unor săpunuri cationice. O parte din lipoproteinele rămase pe start poate fi de asemenea formată din combinația rezultată dintre sarea cuaternară de amoniu și acestea.

Cele observate în cazul clorurii de 4-trimetil-amoniu-stilben sînt valabile nu numai pentru compusul acesta, ci pentru întreaga serie omoloagă preparată, adică pentru toate clorurile de 4-dimetil-alchil-amoniu-stilben, unde alchil = metil, etil, butil, octil și cetil. Pentru a vedea însă în ce măsură cele constatate se observă și la alte substanțe curarizante, s-a trecut și la studiul unor săruri cuaternare de amoniu cu alte structuri chimice, și anume la d-tubocurarina, iodura de trimetil-octil-amoniu, succinilcolina, decametoniul și derivații stilbenici de tipul II. Rezultatele obținute au arătat că în timp ce la primii doi compuși are loc formarea complexului cu α_1-globulinele, la ultimii trei nu se constată nici o schimbare nici în eprubetă la adăugarea sării cuaternare peste ser și nici pe electroforegramele obținute în urma electroforezei amestecului dintre ser și sarea cuaternară de amoniu. Dacă se analizează structura chimică a acestor compuși, se observă că primii doi, precum și derivații stilbenici de tipul I — deci produși care dau complexul cu α_1-globulinele — posedă un grad mai pronunțat de lipofilie decît ceilalți produși care nu dau acest complex. Pentru a forma complexul cu α_1-globulinele înseamnă deci că nu este suficient ca produsul să posede una sau mai multe grupări cuaternare de amoniu (grupări polare) ci el trebuie să posede pe lîngă acestea, și un anumit grad de lipofilie. Partea lipofilă (apolară) a moleculei pare a fi deci, pe lîngă cea polară, într-adevăr unul dintre factorii hotărîtori în realizarea complexului α_1-globulină — sare cuaternară de amoniu, putînd interveni mai mult sau mai puțin favorabil prin factori sterici, forțe Van der Waals, punți de hidrogen în producerea acestei legături.

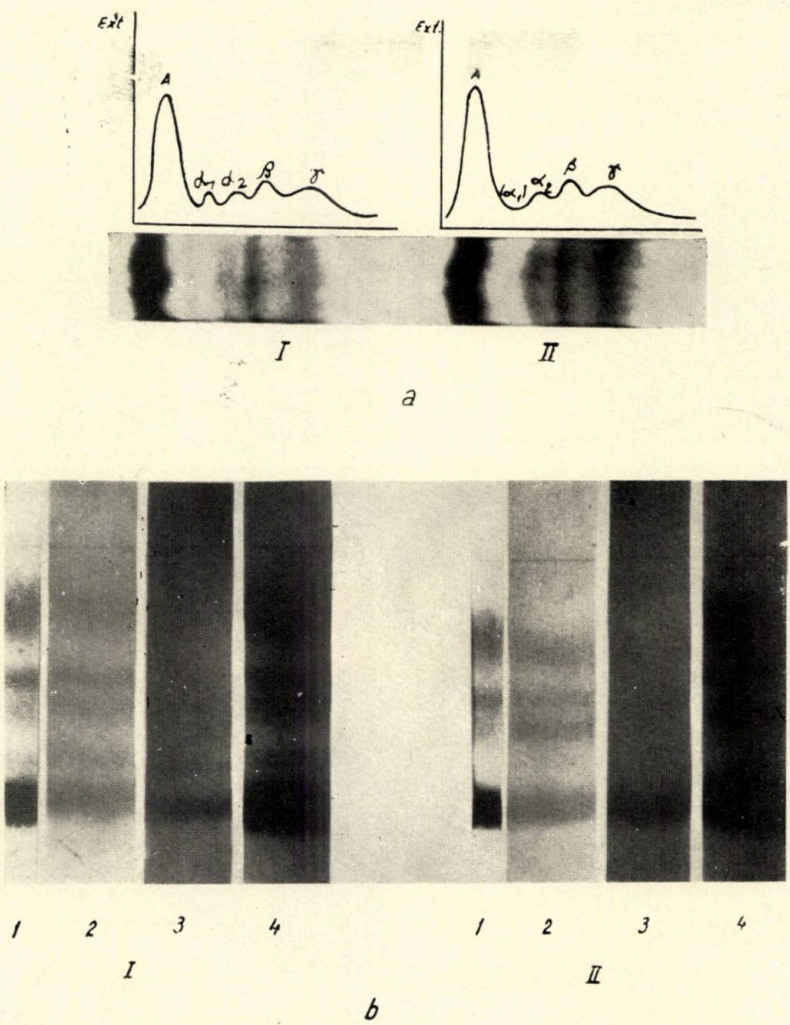


Fig. 1. — **Electroforegramele supernatantului serului sangvin normal de om tratat cu o soluţie de clorură de 4-trimetil-amoniu-stilben 1 %.**

a) Proteinogramele ; *b*) glucidogramele : *1* — proteine ; *2* — polizaharidele neutre ; *3* — polizaharidele acide ; *4* — polizaharidele neutre + acide.
I — ser martor ; *II* — ser tratat.

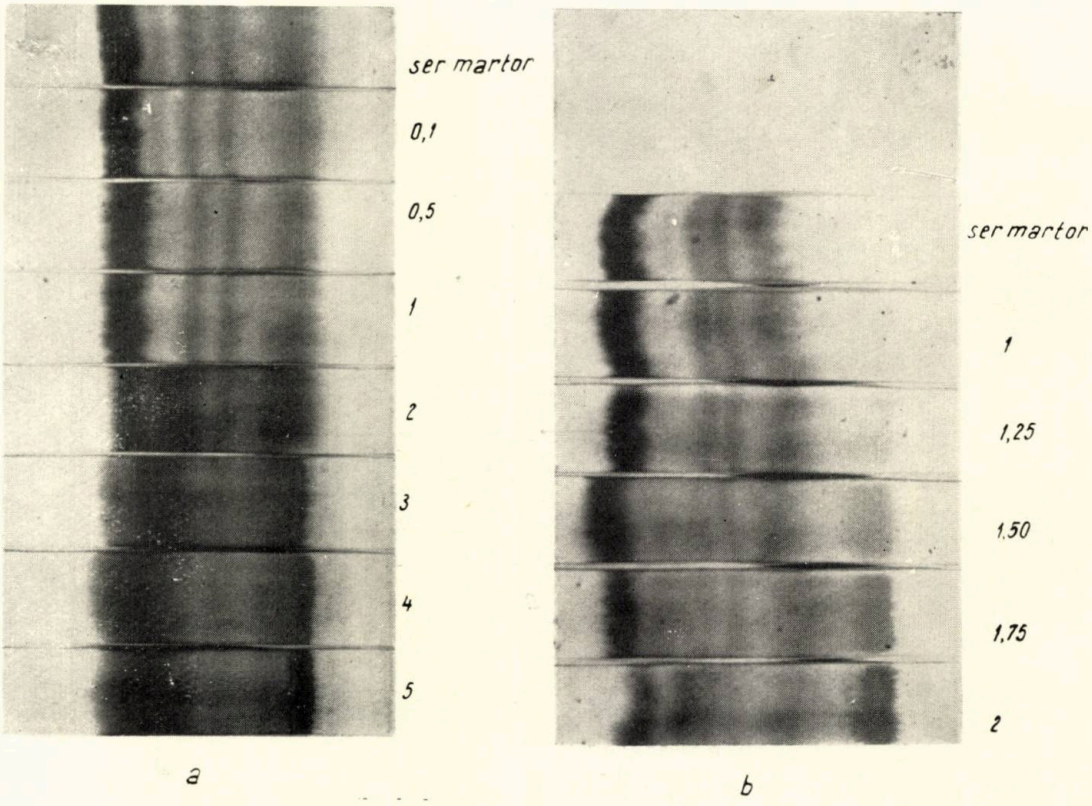

ser martor
0,1
0,5
1
2
3
4
5
a
ser martor
1
1,25
1,50
1,75
2
b

Fig. 2

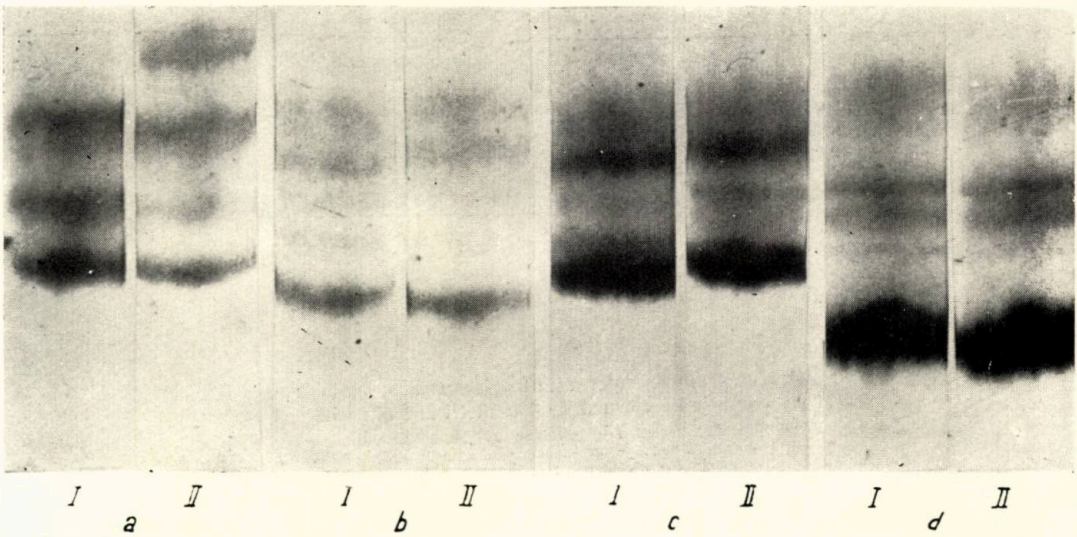

I
II
a
I
II
b
I
II
c
I
II
d

Fig. 3

Această comportare diferită a sărurilor cuaternare de amoniu este interesantă și din alt punct de vedere, și anume dacă ținem seama de faptul că cele două grupuri de produși aparțin în același timp și la două clase diferite de substanțe curarizante. În timp ce produșii care dau complexul cu α_1-globulinele aparțin agenților de blocare competitivă care întrerup transmisia neuro-musculară prin împiedicarea depolarizării membranei postjuncționale de către acetilcolină, ceilalți produși care nu dau complexul cu α_1-globulinele, aparțin agenților depolarizanți care acționează prin producerea unei depolarizări persistente, împiedicînd succesiunea fiziologică de depolarizare-repolarizare produsă de sistemul acetilcolină-colinesterază și necesară pentru transmisia neuro-musculară [3]. Gruparea lipofilă a sărurilor cuaternare de amoniu pare deci să aibă — pe lîngă gruparea cuaternară de amoniu — un rol important și bine determinat în acțiunea farmacodinamică a acestor produși, putînd interveni între altele în mecanismul lor intim de acțiune.

Rezultatele obținute în cadrul cercetărilor extinse asupra unor săruri din scara animală arată că cele observate în cazul serului normal de om nu se limitează numai la acesta, ci — cum era și de așteptat — se întîlnesc și la serurile animalelor cercetate (fig. 3 *a*, *b*, *c*, *d*).

Studierea comportării proteinelor musculare față de aceste săruri este în curs și va forma obiectul unei lucrări viitoare.

CONCLUZII

Sărurile cuaternare de amoniu fluorescente derivate de la stilben de tipul clorurilor de 4-dimetil-alchil-amoniu-stilben, adăugate serului sangvin normal de om formează complecși fluorescenți în mod preferențial cu fracțiunea α_1-globulinică.

Concentrația soluției sării cuaternare de amoniu folosite joacă un rol important în formarea complexului. La o concentrație de 1% cantitatea complexului format este maximă: totalitatea α_1-globulinelor se separă sub formă de complex, fără ca celelalte fracțiuni proteice din ser să fie afectate. Cu cît concentrația se mărește, cantitatea complexului separat se micșorează și dispare aproape complet pentru o concentrație de 5%; în același timp se constată schimbări și la nivelul celorlalte fracțiuni proteice.

Complexul cu α_1-globulinele serice nu se formează cu toate sărurile cuaternare de amoniu luate în studiu. La sărurile care formează acest complex, se constată un caracter lipofil mai pronunțat față de sărurile

Fig. 2. — Proteinogramele supernatantului serului sangvin normal de om tratat cu soluții de clorură de 4-trimetil-amoniu-stilben de concentrații diferite, indicate în dreptul fiecărei benzi în parte.

a) Concentrații cuprinse între 0,1 — 5%; *b*) concentrații cuprinse între 1—2%.

Fig. 3. — Proteinogramele supernatantelor unor seruri animale tratate cu o soluție de clorură de 4-trimetil-amoniu-stilben 1%.

a) Broască; *b*) porumbel; *c*) șobolan; *d*) iepure.
I — ser martor; *II* — ser tratat.

care nu-l formează. Se constată de asemenea că aceste două categorii de substanțe, adică cele care dau și cele care nu dau complexul cu α_1-globulinele, se deosebesc și prin mecanismul lor de acțiune al producerii întreruperii transmisiei neuromusculare. Gruparea lipofilă (apolară) a sărurilor cuaternare de amoniu pare deci să aibă un rol important în determinarea proprietăților chimice și farmacodinamice ale acestora.

Cercetări efectuate pe alte seruri în scara animală (broască, porumbel, șobolan, iepure) arată că acestea se comportă similar serului sangvin normal de om față de diferite săruri cuaternare de amoniu.

Această acțiune selectivă a unora dintre sărurile cuaternare de amoniu ar putea prezenta interes și pentru studiul serurilor patologice.

Prezentată la redacție la 5 iulie 1961

Institutul de biochimie al Academiei R.P.R.,
București

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ МЕЖДУ НЕКОТОРЫМИ ФЛУОРЕСЦЕНТНЫМИ КУРАРИЗИРУЮЩИМИ ВЕЩЕСТВАМИ И СЫВОРОТОЧНЫМИ БЕЛКАМИ

РЕЗЮМЕ

Автор синтезировал ряд флуоресцентных кураризирующих веществ, производных стилбена типа I и II и исследовал их взаимодействие с сывороточными белками.

Из полученных результатов можно сделать следующие выводы:

1. Флуоресцентные четвертичные соли аммония, производные стилбена типа I (хлористые производные 4-диметил-алкил-аммоний-стилбена) при добавлении их в нормальную кровяную сыворотку человека образуют флуоресцентные комплексы, предпочтительно с α_1—глобулиновой фракцией.

2. Концентрация использованного раствора четвертичной соли аммония играет важную роль при образовании комплекса. При концентрации 1%, количество образующегося комплекса максимально: все α_1 — глобулины выделяются в виде комплекса, тогда как остальные белковые фракции сыворотки остаются без изменения. Чем больше концентрация раствора, тем меньше количество выделяющегося комплекса, так как последний после образования вновь растворяется и почти полностью исчезает при концентрации 5% в то же время можно констатировать изменение содержания других белковых фракций.

3. При образовании комплекса α_1 — глобулинов с четвертичной солью аммония, важную роль играет липофильная группа (неполярная группа) четвертичной соли, которая может влиять в смысле пространственных факторов, сил ван дер Ваалса, водородных мости-

ков, содействуя в большей или меньшей степени образованию этой связи. Так, например, комплекс с α_1-глобулинами образуется в случае йодистого триметил-октил-аммония и α_1—тубокурарина, но не образуется в случае сукцинилхолина, декаметония и производных стилбена типа II, которые в сравнении с соединениями, образующими этот комплекс, обладают менее ярко выраженным липофильным характером. Было также констатировано, что указанные две категории веществ, т. е. те, которые образуют комплекс с α_1-глобулинами, и те, которые не образуют его, обладают различным механизмом прерывания нейромышечной передачи. Липофильная (неполярная) группа четвертичной соли аммония играет, по-видимому, важную роль (помимо четвертичной полярной группы аммония) при определении химических и фармакодинамических свойств данных веществ, влияя помимо всего прочего и на механизм их действия.

4. Исследования, проведенные с некоторыми сыворотками животных, находящихся на различных ступенях филогенетического ряда (лягушка, голубь, крыса, кролик), показывают, что во всех указанных случаях сыворотки ведут себя по отношению к различным четвертичным солям аммония подобно нормальной сыворотке человека.

ОБЪЯСНЕНИЕ РИСУНКОВ

Рис. 1. — Электрофореграммы надосадочной жидкости нормальной кровяной сыворотки человека, обработанной 1 % -ным раствором хлористого 4-триметил аммоний-стилбена. *a*) Электрофореграммы белков. *b*) Электрофореграммы сахаров. 1. Белки. 2. Нейтральные полисахариды. 3. Кислые полисахариды. 4. Нейтральные + кислые полисахариды. I. Контроль. II. Обработанная сыворотка.

Рис. 2. — Электрофореграммы белков надосадочной жидкости нормальной кровяной сыворотки человека, обработанной растворами хлористого 4-триметил-аммоний-стилбена различных концентраций, указанных для каждой полосы. *a*) Концентрации от 0,1 до 5 %. *b*) Концентрации от 1 до 2 %.

Рис. 3. — Электрофореграммы белков надосадочных жидкостей сывороток некоторых животных, обработанных 1 %-ным раствором хлористого 4-триметил-аммоний стилбена. *a*) Лягушка. *b*) Голубь. *c*) Крыса. *d*) Кролик. I. Контроль. II. Обработанная сыворотка.

INTERACTION DE CERTAINES SUBSTANCES CURARISANTES FLUORESCENTES ET DES PROTÉINES SÉRIQUES

RÉSUMÉ

L'auteur a obtenu par synthèse toute une série de substances curarisantes fluorescentes, dérivées du stilbène, des types I et II, et a étudié l'interaction de ces substances et des protéines sériques.

Les résultats obtenus ont permis les conclusions suivantes :

1. Les sels quaternaires d'ammonium fluorescents, dérivés du stilbène du type I (les chlorures de 4-diméthyle-alkyle-ammonium-stilbène), ajoutés au sérum sanguin humain normal, déterminent la formation de substances complexes fluorescentes, liées d'une façon préférentielle à la fraction globulinique α_1.

2. La concentration de la solution de sels quaternaires d'ammonium utilisée joue un rôle important dans la formation du complexe. A la concentration de 1%, la quantité de substance complexe formée est maximum : la totalité de la fraction globulinique α_1 se sépare sous forme de complexe sans que les autres fractions protéiques du sérum soient affectées. Au fur et à mesure que la concentration s'élève, la quantité de substance complexe séparée diminue et, à une concentration de 5%, se dissout à nouveau et disparaît presque complètement ; on constate en même temps des changements au niveau des autres fractions protéiques.

3. Dans la formation du complexe globuline α_1 — sel quaternaire d'ammonium, un rôle important revient au groupement lipophile (apolaire) du sel quaternaire qui pourrait intervenir par des facteurs stériques, par les forces de Van der Waals ou des ponts d'hydrogène, intervention plus ou moins favorable dans l'établissement de cette liaison. Ainsi, on observe également la formation du complexe à globulines α_1 à l'aide d'iodure de triméthyloctyl-ammonium et de d-tubocurarine, mais non pas avec la succinylcholine, avec le décaméthonium et avec les dérivés du stilbène du type II, qui, en comparaison avec les produits qui donnent ce complexe, ont un caractère lipophile moins prononcé. On constate également que ces deux catégories de substances — celles qui forment le complexe et celles qui ne le forment pas — se distinguent par leur mécanisme d'action sur l'interruption de la transmission neuro-musculaire. Le groupement lipophile (apolaire) du sel quaternaire d'ammonium semble donc jouer un rôle important — à côté du groupement quaternaire d'ammonium (groupement polaire) — dans la détermination des propriétés chimiques et pharmacodynamiques de ces produits, pouvant intervenir, entre autres, dans leur mécanisme intime d'action.

4. Les recherches effectuées avec certains sérums provenant d'animaux situés à différents degrés de l'échelle phylogénétique (grenouille, pigeon, rat, lapin) montrent que ces sérums se comportent en présence des sels quaternaires d'ammonium de la même façon que le sérum humain normal.

EXPLICATIONS DES FIGURES

Fig. 1. — Electrophorégrammes du surnageant du sérum sanguin humain normal, traité par une solution à 1% de chlorure de 4-triméthyle-ammonium-stilbène. *a*) Protéinogrammes. *b*) Glucidogrammes. 1. Protéines ; 2. polysaccharides neutres ; 3. polysaccharides acides ; 4. polysaccharides neutres + acides.

I — Sérum témoin ; II — sérum traité.

Fig. 2. — Protéinogrammes du surnageant du sérum sanguin humain normal, traité par des solutions de chlorure de 4-triméthyle-ammonium-stilbène à différentes concentrations, indiquées

au niveau de la bande respective . *a*) Concentrations entre 0,1 et 5 %. *b*) Concentrations entre 1 et 2 %.

Fig. 3. — Protéinogrammes des surnageants de certains sérums animaux traités par une solution à 1 % de chlorure de 4-triméthyle-ammonium-stilbène. *a*) Grenouille ; *b*) pigeon ; *c*) rat ; *d*) lapin.

I — Sérum témoin ; II — sérum traité.

BIBLIOGRAFIE

1. BENHAMON E., PUGLIESE I., CHICHE J. C., ARNOUCH P., *La microélectrophorèse sur papier avec le bleu de toluidine et ses applications pratiques.* Presse méd., *62*, 651 (1954).
2. CAVALLITO C. J., *Influences of lipophilic chemical structures on curarimimetic and other activities of some quaternary ammonium salts.* Atti XI Congresso Società Italiana di Anestesiologia, Simposio Internazionale su Curaro, Curarosimili e Curarizzanti. Venezia, 12—15 Settembre 1958, p. 149—161.
3. FOLDES F. F., MARCHAJ T. S., HUNT R. D., Mc NALL P. G., CARBERRY P.C., *Synthetic muscle relaxants in Anesthesia.* J. Am. Med. Assoc., *150*, 1559—1566 (1952).
4. IDU S. M., CIMPEANU S., *Electroforeza.* Ed. medicală, Bucureşti, 1957, 70.
5. MACOVSCHI E., *Dans le domaine des substances curarisantes.* Atti XI Congresso Società Italiana di Anestesiologia, Simposio Internazionale su Curaro, Curarosimili e Curarizzanti. Venezia, 12—15 Settembre 1958, p. 121—130.
6. MORA B., REBEYROTTE P., POLONOVSKI J., *Influence des substances tensioactives sur la mobilité électrophorétique des lipoprotéides plasmatiques.* Bull. Soc. Chim. biol., *37*, 957—68 (1958).
7. NADOR K., *Zusammenhänge zwischen chemischer Struktur und pharmakodynamischer Wirkung bei Verbindungen mit lähmendem Effekt der neuro-muskulären Transmission.* Atti XI Congresso Società Italiana di Anestesiologia, Simposio Internazionale su Curaro, Curarosimili e Curarizzanti. Venezia, 12—15 Settembre 1958, p. 322—23.
8. PANKHURST K. G. A., SMITH R. C. M., *Adsorption of paraffin-chain salts to proteins. I. Some factors influencing the formation and separation of complexes between gelatin and dodecylsodium sulfate.* Trans. Faraday Soc., *40*, 565—71 (1944).
9. POLONOSVKI J., *Action des amines quaternaires à chaine grasse sur les protéines, les lipides et les cénapses lipoprotéiques.* Ann. Chim., 671—767 (1950).
10. PUTNAM F. W., NEURATH H., *Interaction between proteins and synthetic detergents.* II *Electrophoretic aualysis of serum albumine-sodium dodecyl sulfate mixtures.* J. Biol. Chem., *159*, 195—209 (1945) ; *The precipitation of proteins by synthetic detergents.* J. Amer. Chem. Soc., *66*, 692—697 (1944).
11. ROMANI I. D., *La recherche et l'évaluation des glyco-protéines du sérum à l'aide de l'électrophorèse sur papier.* Presse med., *62*, 1579 (1954).
12. SCHELL H. D., *Săruri cuaternare de amoniu fluorescente derivate de la stilben.* Studii şi cercet. chimie, *4*, 681 — 692 (1961).
13. SCHELL H. D., *Comportarea proteinelor sanguine şi musculare faţă de unele substanţe curarizante fluorescente derivate de la stilben.* Studii şi cercet. bioch., *4*, 365—369 (1961).
14. BIER M., *Electrophoresis, theory, methods and applications.* Academie Press Inc., Publishers, New York, 1959, p. 203.
15. ТИТАЕВ А.А., ЛАРСКИН Е. Г., *Окраска глюкопротеидов на электрофореграммах.* Лаб. дело. 5, 3, 25(1959).

COMPORTAREA COACERVATELOR PROTEINO-PECTICE ÎN PREZENȚA POLIGALACTURONAZEI

DE

S. VASU

Asemănarea dintre proprietățile fizico-chimice ale protoplasmei celulare și cele ale coacervatelor a condus la ideea că protoplasma are o structură asemănătoare unor coacervate complexe [1], [2]. Pornind de la această idee și luînd în considerare și teoria academicianului A. I. Oparin [3] după care coacervatele constituie una din etapele fundamentale prin care materia lipsită de viață a evoluat către materia vie, în ultimii ani s-au început cercetări privind relațiile dintre coacervate și enzime.

Primele cercetări au fost făcute de A. I. Oparin și colaboratori [4], [5], [6], [7] și au avut drept scop stabilirea comportării enzimelor incluse în interiorul picăturilor de coacervat.

Alte laturi ale acestei probleme s-au cercetat în Institutul de biochimie. Urmărind stabilirea efectului coacervatelor asupra reacțiilor enzimatice care se petrec în mediul exterior picăturilor, E. Macovschi, S. Vasu și M. Cîrsteanu [8] au arătat că picăturile de coacervat gata formate înglobează din soluția cu care vin în contact unele enzime ca β-amilaza și ureaza, afectînd negativ mersul reacțiilor enzimatice.

Pe de altă parte, cercetînd acțiunea unor enzime asupra coacervatelor înseși, E. Macovschi și L. Arnet [9] au dovedit că pepsina, tripsina, unele sucuri digestive care conțin aceste enzime și în special papaina exercită o acțiune coacervatolitică puternică, conducînd la dispariția rapidă a picăturilor de coacervat (gelatină-gumă arabică) sau împiedicînd formarea lor. S-a stabilit că această acțiune nu este de natură enzimatică, ci fizico-chimică, făcîndu-se ipoteza că proteazele acționează aici ca proteine și nu ca enzime. Lucrîndu-se cu unele proteine fără activitate proteolitică, ca de exemplu hemoglobina, ovalbumina [10] sau lipaza [11], s-a observat o acțiune similară cu a proteazelor.

Totuşi, nu toate enzimele manifestă o acţiune coacervatolitică. De aceea acad. E. Macovschi ne-a propus să urmărim activitatea unor enzime asupra coacervatelor în condiţiile cînd cel puţin una din componentele acestora constituie ea însăşi substratul enzimei cercetate.

În acest scop ne-am oprit asupra sistemului coacervate proteino-pectice şi enzime pectolitice.

Afectarea acizilor pectinici de către unii coloizi hidrofili este semnalată în literatură. Astfel, J. Bonner (citat după [12]) constată separarea în straturi a unui amestec ce conţine 8% acizi pectinici şi 8% gumă arabică. Acelaşi autor [13] stabileşte că în anumite condiţii de pH acizii pectinici formează coacervate cu gelatina, însă nu se preocupă îndeaproape de studiul lor. De asemenea G. A. Joseph (citat după [12]) indică precipitarea cazeinatului de sodiu şi a cazeinei din laptele proaspăt, în prezenţa ionilor de calciu, după adăugarea pectinei.

Pe de altă parte, în Institutul de biochimie s-au] obţinut pentru prima oară coacervate pe bază de proteine native prin tratarea serului sangvin uman cu gumă arabică şi acid acetic [14], [15]. Se putea pune deci problema dacă înlocuirea gumei arabice cu substanţe pectinice nu ar conduce de asemenea la formarea de coacervate.

Ţinînd seama de lucrările de mai sus, ne-am propus a cerceta condiţiile de coacervare a acizilor pectici şi pectinici pe de-o parte cu gelatina, pe de altă parte cu serul sangvin uman.

Acizii pectici şi pectinici folosiţi au fost obţinuţi din preparate de pectină industrială, purificate prin extracţii repetate cu etanol 70%, acidulat cu acid clorhidric pînă la o concentraţie finală de 0,05N [12]; pentru obţinerea acizilor pectinici, demetoxilarea s-a făcut în mediu alcalin (pH= 8,5) [16]. Final, acizii pectici şi pectinici erau spălaţi cu etanol 95% şi eter, preparatele fiind apoi uscate la temperatura camerei. Caracteristicile preparatelor obţinute au fost în medie : pentru acizii pectinici 83,5% acid galacturonic, 8,3% grupe metoxil, 9,8% umiditate şi 0,93% cenuşă, iar pentru acizii pectici 92,1% acid galacturonic, 9,6% umiditate şi 0,62% cenuşă.

Pentru obţinerea coacervatelor, soluţiile substanţelor pectice erau amestecate cu soluţia de gelatină sau serul sangvin; formarea coacervatelor în urma acidulării sau alcalinizării amestecului era urmărită la microscop; picăturile de coacervat erau apoi separate prin centrifugare (5 min la 3 500 ture/min) şi în lichidul de echilibru se urmărea variaţia proteinelor, a substanţelor pectice şi indicele de refracţie (refractometrul Abbé), în funcţie de pH-ul realizat pentru coacervare.

Coacervatul cu gelatină se obţinea amestecînd 2 ml soluţie de acizi pectici sau pectinici 1% cu 2 ml soluţie de gelatină 1%. Amestecul era acidulat sau alcalinizat cu diferite cantităţi de acid acetic 5% (0—2 ml), respectiv hidroxid de sodiu 0,01N (0—1 ml), adăugînd ulterior apă pînă la un volum final de 6 ml.

Pentru coacervatul cu ser se amestecau 3 ml., soluţie de acizi pectici sau pectinici 1% cu 0,5 ml ser sangvin uman, se adăugau apoi diferite cantităţi de acid acetic 5% (0—1,5 ml) şi final volumul era completat la

5 ml cu apă. pH-ul probelor se determina cu pH-metrul Multoscop V, utilizînd electroda de sticlă.

Determinarea proteinelor s-a făcut colorimetric folosind metoda biuretului [17]. La 2 ml supernatant se adăugau 8 ml reactiv; după 30 min culoarea complexului era maximă. Spre sfîrșitul acestei perioade de timp amestecul era centrifugat (5 min la 3 500 ture/min) pentru îndepărtarea pectinelor care precipitau (datorită ionilor de cupru din reactiv). Culoarea supernatantului era fotometrată la fotometrul Pulfrich, cu filtrul S = 57 (λ = 575 mμ). Prin probe de control s-a constatat că la concentrații de substanțe pectice care depășeau cu mult cantitatea de pectine rămase în lichidul de echilibru, culoarea obținută cu proteinele nu era modificată sensibil.

Substanțele pectice erau determinate colorimetric după metoda descrisă de E. A. McComb și R. M. McCready [18]. Acizii pectinici erau în prealabil demetoxilați în mediu alcalin. Culoarea obținută era măsurată după 25 min de la adăugarea soluției alcoolice de carbazol, utilizînd fotometrul Pulfrich cu filtrul S = 53 (λ = 533 mμ).

Redăm în figurile 1 și 2 curbele obținute pentru coacervatele cu acizi pectinici. Curbele pentru coacervatele cu acizi pectici sînt similare. Minimele din figuri corespund maximelor de coacervare, care în condițiile noastre de lucru sînt situate la pH 3,2—3,4 cînd, în medie, circa 93—97% acizi pectici și 84% gelatină respectiv 92% proteine serice participă la formarea coacervatelor. În cazul coacervatelor cu acizi pectinici, 80—87% acizi pectinici și 70% gelatină respectiv 80% proteine serice participă la formarea coacervatelor.

Urmărind influența temperaturii asupra coacervatelor proteino-pectice, practic nu s-au înregistrat diferențe la temperaturile cuprinse între 20 și 40°C.

Cercetînd participarea fracțiunilor proteice din serul sangvin uman la formarea coacervatelor cu guma arabică, D. Moțet-Grigoraș [15] a arătat că practic numai albuminele participă la formarea coacervatului. De aceea, ni s-a părut interesant a urmări coacervabilitatea diferitelor fracțiuni proteice în cazul obținerii coacervatelor cu substanțe pectice.

În acest scop am recurs la electroforeza pe hîrtie. După separarea prin centrifugare a picăturilor de coacervat ser sangvin-pectine, supernatantul era concentrat de circa 20—30 ori, pentru a se obține concentrația proteică necesară analizei electroforetice. Concentrarea supernatantului s-a făcut fie prin perevaporare, fie prin dializă față de o soluție de gumă arabică 30% [19]. Condițiile de electroforeză au fost următoarele: hîrtie Whatman nr. 1; tampon Michaelis pH = 8,2; μ = 0,065; E = 10V/cm; I = 0,5 mA și t = 8h.

Compararea electroforegramelor serului ca atare și a serului diluat ca pentru obținerea coacervatelor și apoi concentrat, cu electroforegrama lichidului de echilibru, a condus la concluzia că albuminele din ser participă preferențial, față de globuline, la formarea coacervatului cu pectină. Rezultatele obținute sînt deci similare cu acelea găsite pentru coacervatul ser sangvin-gumă arabică [16], [19], [20].

Mărind concentrația acizilor pectici și pectinici de la 1% la 2—2,5% și, corespunzător, mărind concentrația gelatinei sau cantitatea de ser sangvin, s-au putut obține coacervate în condițiile de pH indicate mai sus.

Asupra coacervatelor proteino-pectice ne-am propus să acționăm cu un preparat poligalacturonazic. În felul acesta, realizam modelul experimental dorit, în sensul că acționam asupra coacervatelor cu o enzimă al cărei substrat era angajat în formarea coacervatului.

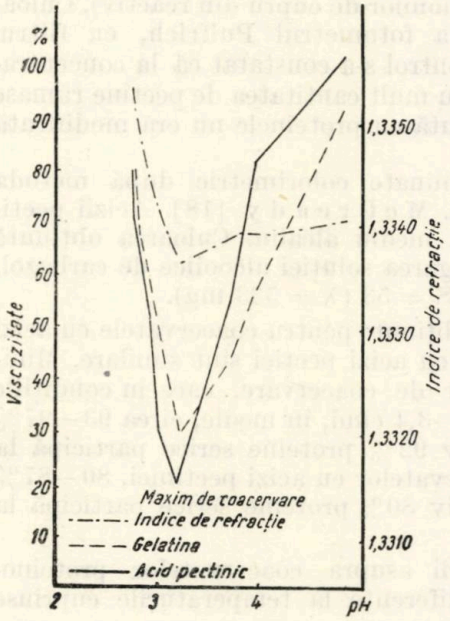


Fig. 1. — Coacervarea gelatinei cu acizi pectinici.

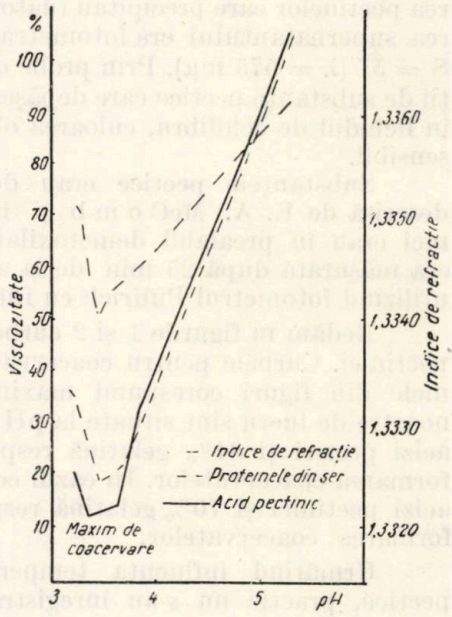


Fig. 2. — Coacervarea serului sangvin uman cu acizii pectinici.

Preparatele poligalacturonazice au fost obținute din culturi de *Aspergillus niger* crescut pe mediu Raulin, după o dezvoltare de 5—7 zile. Se separa miceliul de mediul de cultură și enzima era precipitată cu sulfat de amoniu (70 g $(NH_4)_2SO_4$ pentru 100 ml mediu de cultură). Precipitatul se dizolva în minimum de apă și apoi era dializat față de apa distilată, pînă la îndepărtarea sulfatului de amoniu. Soluția de enzimă era filtrată și diluată pînă la obținerea unei diluții convenabile pentru urmărirea activității enzimatice. Activitatea poligalacturonazei s-a urmărit prin metoda viscozimetrică (viscozimetre Ostwald; temperatura de 30°C), care permite măsurarea activității pe una și aceeași probă la timpi diferiți, fără intervenția unor factori care ar putea afecta stabilitatea coacervatelor.

În prealabil s-a stabilit că poligalacturonaza nu manifestă o acțiune coacervatolitică asupra coacervatului gelatină-gumă arabică, așa cum s-a găsit în cazul acțiunii unor proteaze și sucuri digestive [9], precum și în cazul unor proteine fără activitate proteolitică [10], [11]. Totodată însă,

separînd prin centrifugare coacervatele gelatină-gumă arabică tratate cu poligalacturonază şi urmărind activitatea enzimei pe fracţiunile obţinute (după metodica descrisă în altă lucrare [8]), a reieşit că poligalacturonaza este parţial înglobată în picăturile de coacervat, la fel ca β-amilaza şi ureaza.

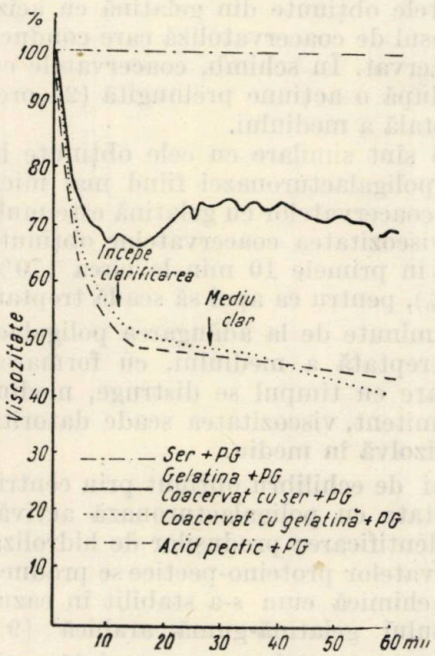


Fig. 3. — Variaţia viscozităţii obţinute pe sistemele acizi pectici-gelatină, respectiv ser sangvin în prezenţa poligalacturonazei (PG).

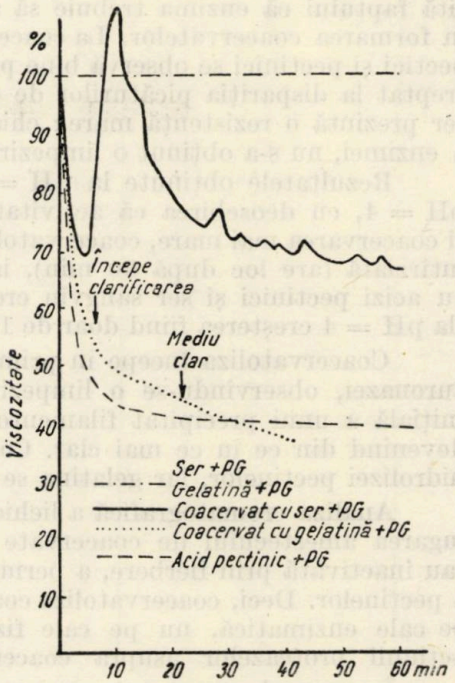


Fig. 4. — Variaţia viscozităţii obţinute pe sistemele acizi pectinici-gelatină, respectiv ser sangvin, în prezenţa poligalacturonazei (PG).

Pentru stabilirea acţiunii poligalacturonazei asupra coacervatelor proteino-pectice s-a procedat în principiu astfel: se forma coacervatul, se adăuga enzima şi apoi se urmărea activitatea enzimatică şi stabilitatea picăturilor de coacervat, atît microscopic cît şi macroscopic. Activitatea poligalacturonazei a fost urmărită în prezenţa coacervatelor proteino-pectice obţinute în condiţiile arătate, prin amestecarea unei soluţii de acizi pectici sau pectinici 2% cu soluţie de gelatină 2%, respectiv ser sangvin, la pH = 4 (pH-ul optim de activitate al enzimei) şi la pH = 3,5 (un pH apropiat de pH-ul optim de coacervare). Pentru comparaţie, s-a urmărit activitatea enzimei în prezenţa substanţelor pectice la o diluţie corespunzătoare obţinerii coacervatelor.

În viscozimetre se pipetau cîte 9 ml din amestecul care conţine coacervatul, iar după 10—15 min (timp necesar luării temperaturii) se adăuga 1 ml soluţie de enzimă. Se determina viscozitatea timp de 60 min la intervale mici (1—2 min). Scăderea viscozităţii se exprima procentual, socotind 100% viscozitatea amestecului de coacervat sau a soluţiei de pectină

în prezența enzimei inactivate prin fierbere. Spre exemplificare redăm în figurile 3 și 4 rezultatele obținute la pH = 4.

Din rezultatele obținute reiese că activitatea poligalacturonazei scade în general în prezența coacervatelor proteino-pectice, probabil datorită faptului că enzima trebuie să acționeze asupra substratului angajat în formarea coacervatelor. La coacervatele obținute din gelatină cu acizi pectici și pectinici se observă bine procesul de coacervatoliză care conduce treptat la dispariția picăturilor de coacervat. În schimb, coacervatele cu ser prezintă o rezistență mare : chiar după o acțiune prelungită (24 ore) a enzimei, nu s-a obținut o limpezire totală a mediului.

Rezultatele obținute la pH = 3,5 sînt similare cu cele obținute la pH = 4, cu deosebirea că activitatea poligalacturonazei fiind mai mică și coacervarea mai mare, coacervatoliza coacervatelor cu gelatină este mult întîrziată (are loc după 60 min), iar viscozitatea coacervatelor obținute cu acizi pectinici și ser sangvin crește în primele 10 min la circa 170% (la pH = 4 creșterea fiind doar de 112%), pentru ca apoi să scadă treptat.

Coacervatoliza începe în primele minute de la adăugarea poligalacturonazei, observîndu-se o limpezire treptată a mediului, cu formarea inițială a unui precipitat filamentos care cu timpul se distruge, mediul devenind din ce în ce mai clar. Concomitent, viscozitatea scade datorită hidrolizei pectinelor, iar gelatina se redizolvă în mediu.

Analiza cromatografică a lichidului de echilibru obținut prin centrifugarea amestecului de coacervate tratate cu poligalacturonază activă, sau inactivată prin fierbere, a permis identificarea produșilor de hidroliză a pectinelor. Deci, coacervatoliza coacervatelor proteino-pectice se produce pe cale enzimatică, nu pe cale fizico-chimică cum s-a stabilit în cazul acțiunii protează asupra coacervatului gelatină-gumă arabică [9].

În general, amestecul care conține coacervatele cu ser prezintă oscilații ale viscozității, creșteri urmate imediat de scăderi, aceasta datorită faptului că pe de-o parte are loc coacervatoliza picăturilor de coacervat care eliberează pectină în lichidul de echilibru, determinînd creșterea viscozității, iar pe de altă parte pectina eliberată este atacată de poligalacturonază, ceea ce conduce la scăderea imediată a viscozității. Acest fapt ne-a fost confirmat și prin urmărirea viscozității amestecului care conține coacervatele pectice (în absența poligalacturonazei), în funcție de condițiile de obținere a maximului de coacervare, cînd a reieșit că viscozitatea scade sau crește după cum cantitatea de pectină din lichidul de echilibru este mai mică sau mai mare, minimul de viscozitate înregistrîndu-se la un maxim de coacervare.

În încheiere, rezultă că atît acizii pectici cît și pectinici pot forma coacervate cu gelatina și serul sangvin uman, în anumite condiții de proporționalitate și pH. Dintre proteinele serice, albuminele participă preferențial față de globuline la formarea coacervatelor cu substanțele pectice.

Stabilitatea acestor coacervate este afectată de către poligalacturonază, care acționînd asupra pectinelor din coacervat produce coacervatoliza picăturilor. La rîndul ei, activitatea poligalacturonazei este micșorată în prezența coacervatelor față de martorul fără coacervate, probabil

datorită faptului că enzima trebuie să acţioneze asupra substratului angajat în formarea coacervatelor.

Poligalacturonaza produce coacervatoliza pe cale enzimatică, nu pe cale fizico-chimică cum s-a dovedit în cazul acţiunii proteazelor asupra coacervatului gelatină-gumă arabică.

Prezentată la redacţie la 18 iulie 1961

Institutul de biochimie al Academiei R.P.R., Bucureşti

ПОВЕДЕНИЕ БЕЛКОВО-ПЕКТОВЫХ КОАЦЕРВАТОВ В ПРИСУТСТВИИ ПОЛИГАЛАКТУРОНАЗЫ

РЕЗЮМЕ

Принимая во внимание, что протеолитические энзимы и некоторые пищевые соки, содержащие их, обладают коацерватолитическим действием, не связанным с их энзиматической активностью, была исследована активность полигалактуроназы в присутствии коацерватов, в условиях, когда один из компонентов последних является субстратом энзима.

Были установлены условия, ведущие к коацервированию желатина и сыворотки человеческой крови пектовыми и пектиновыми кислотами; в равновесной жидкости определяли изменение белков, пектовых веществ и показателя преломления в зависимости от pH, необходимого для коацервирования. Электрофоретическим путем было показано, что альбумины коацервируются преимущественно по сравнению с сывороточными глобулинами,

На белково-пектовые коацерваты действовали частично очищенным, полученным из культур, препаратом полигалактуроназы.

Активность полигалактуроназы уменьшается в присутствии коацерватов и в то же время наблюдается явление коацерватолиза. У коацерватов, полученных с желатином, коацерватолиз явно выражен, тогда как коацерваты с сывороткой обладают большим сопротивлением по отношению даже к более продолжительному действию энзима; а среда не становится более прозрачной.

Коацерватолитическое действие полигалактуроназы следует отнести в этой работе за счет специфической активности, а не воздействия физико-химического характера, как было показано в других работах, касающихся действия некоторых пищевых энзимов на коацерват желатина с гуммиарабиком.

Снижение активности полигалактуроназы в присутствии белково-пектовых коацерватов, по-видимому, вызвано тем, что энзим должен действовать на субстрат, участвующий в образовании коацервата.

ОБЪЯСНЕНИЕ РИСУНКОВ

Рис. 1. — Коацервирование желатина пектиновыми кислотами.

Рис. 2. — Коацервирование сыворотки человеческой крови пектиновыми кислотами.

Рис. 3. — Изменение вязкости, полученое на системах пектовые кислоты—желатин и пектовые кислоты с кровяной сывороткой в присутсвии полигалактуроназы (PG).

Рис. 4. — Изменение вязкости, полученое на системах пектиновые кислоты—желатин и пектиновые кислоты с кровяной сывороткой в присутствии полигалактуроназы (PG).

COMPORTEMENT DES COACERVATS PROTÉINO-PECTIQUES EN PRÉSENCE DE LA POLYGALACTURONASE

RÉSUMÉ

Les enzymes protéolytiques et certains sucs digestifs qui en contiennent manifestent une action coacervolytique qui ne tient pas à leur activité enzymatique. Aussi l'auteur s'est-il attaché à étudier l'activité de la polygalacturonase sur les coacervats lorsque l'un de leurs composants constitue le substratum même de l'enzyme.

On a établi les conditions qui entraînent la coacervation de la gélatine et celle du sérum sanguin humain avec des acides pectiques et pectiniques, en déterminant dans le liquide d'équilibre les variations des protéines, des substances pectiques et de l'indice de réfraction, en fonction du pH réalisé pour la coacervation. L'électrophorèse a montré que la coacervation des albumines l'emporte sur celle des globulines sériques.

On a étudié l'action, sur les coacervats protéino-pectiques, d'une préparation polygalacturonasique, partiellement purifiée, obtenue à partir de cultures d'*Aspergillus niger*.

L'activité de la polygalacturonase diminue en présence des coacervats et on observe en même temps le phénomène de coacervatolyse. Pour les coacervats obtenus à la gélatine, la coacervatolyse est très nette, tandis que les coacervats du sérum présentent une résistance élevée, même à une action prolongée de l'enzyme, et on n'arrive pas à obtenir la clarification du milieu.

L'action coacervatolytique de la polygalacturonase est due ici à son activité spécifique et non pas à une interaction de nature physico-chimique, comme pour certains enzymes digestifs agissant sur les coacervats gélatine-gomme arabique.

La baisse de l'activité de la polygalacturonase en présence des coacervats protéino-pectiques est probablement due au fait que cet enzyme doit agir sur le substratum engagé dans la formation du coacervat.

EXPLICATION DES FIGURES

Fig. 1. — Coacervation de la gélatine avec les acides pectiniques.

Fig. 2. — Coacervation du sérum sanguin humain avec les acides pectiniques.

Fig. 3. — Variation de la viscosité obtenue sur les systèmes acides pectiques-gélatine et acides pectiques-sérum sanguin, en présence de la polygalacturonase.

Fig. 4. — Variation de la viscosité obtenue sur les systèmes acides pectiniques-gélatine et acides pectiniques-sérum sanguin en présence de la polygalacturonase.

BIBLIOGRAFIE

1. H. G. BUNGENBERG DE JONG, *Die Koazervation und Bedeutung für Biologie.* Protoplasma, *15*, 110, 156 (1932).
2. А.С. ТРОШИН, *Проблема клеточной проницаемости* Изд. Ан. СССР, Москва — Ленинград, 52, 72 (1956).
3. A. I. OPARIN, *Originea vieţii pe pământ*, traducere, Ed. ştiinţifică, Bucureşti, 1960.
4. А. И. ОПАРИН, Т. Н. ЕВРЕИНОВА, Т.А. ШУБЕРТ, М.Н. НЕСТЮК. *Коацерваты и ферменмы. Белково-углеводные коацерваты и α-амилиза.* ДАН **104**. 587 (1955).
5. Т.Н. ЕВРЕИНОВА, Т.А.ШУБЕРТ, М.Н. НЕСТЮК, *Коацерваты и ферменты. Белкого углеводные коацерваты и β-амилаза* ДАН. **105**, 137 (1956).
6. Т. Н. ЕВРЕИНОВА, Т.И. ЛАРИОНОВА, *Белково-углеводные коацерваты и каталаза*, ДАН. **115**, 133 (1957).
7. А.И. ОПАРИН, Л.Б. СЕРЕБРОВСКАЯ, *Действие рибонуклеазы, включенной в коацерватные капли.* ДАН, **122**, 661 (1958).
8. E. MACOVSCHI, S. VASU, M. CÎRSTEANU, *Acţiunea ureazei şi β-amilazei asupra ureii respectiv amidonului în prezenţa unor coacervate gluco-proteice.* Studii şi cercetări de biochimie, **I**, *4*, 297 (1958).
9. Е. МАКОВСКИЙ и сотрудники. *Образование и поведение желатино-гумиарабиковых коацерватов в присутствии протеолитических ферментов и пищеварительных соков.* Revue de chimie **II**, *2*, 287 (1957).
10. L. ARNET, *Formarea şi comportarea coacervatului gelatină-gumă arabică în prezenţa hemoglobinei, ovalbuminei şi serum albuminei.* Studii şi cercetări de biochimie, **I**, *4*, 363 (1958).
11. L. SOICHER, *Comportarea coacervatului gelatină-gumă arabică în prezenţa lipazei.* Studii şi cercetări de biochimie, **II**, *3*, 321 (1959).
12. Z. I. KERTESZ, *The Pectic Substances.* Interscience Publish. Inc., New York — London, 1951, 110, 420.
13. J. BONNER, *Some Colloidal Properties of the Pectins.* Proc. Konnink, Akad. Amsterdam, **XXXVIII**, *3*, 346 (1935).
14. E. MACOVSCHI, M. CÎRSTEANU, *Coacervatul dintre proteinele serului sangvin uman şi guma arabică.* Studii şi cercetări de biochimie, **II**, *2*, 111 (1959).
15. D. MOTET-GRIGORAŞ, *Participarea fracţiunilor proteice din serul sangvin uman normal la formarea coacervatului cu guma arabică.* Studii şi cercetări de biochimie, **II**, *2*, 181 (1959).
16. R. P. NEWBOLD, M. A. JOSLYN, *Chemistry of analitically important pectic acids.* J. Ass. Off. Agr. Chem., *35*, 872 (1952).
17. A. G. GORNALL, C. J. BAEDAWILL, M. M. DAVID, *Determination of serum proteins by means of the biuret reaction.* J. Biol. Chem., *177*, 755 (1949).
18. E. A. MC COMB, R. M. MCCREADY, *Colorimetric determination of pectic substances.* Anal. Chem., **XXIV**, *10*, 1630 (1952).
19. D. MOTET-GRIGORAŞ, *Contribuţii la metoda de cercetare a coacervării proteinelor din serul sangvin uman cu guma arabică.* Studii şi cercetări de biochimie, **III**, *3*, 303 (1960).
20. D. MOTET-GRIGORAŞ, *Coacervarea fracţiunilor proteice din serul sangvin uman denaturat prin căldură.* Studii şi cercetări de biochimie, **IV**, *2*, 257 (1961).

RĂSĂRIREA SEMINȚELOR ȘI METABOLISMUL PUIEȚILOR DE *FRAXINUS EXCELSIOR L.* REZULTAȚI DIN SEMINȚE TRATATE CU SOLUȚII RADIOACTIVE DE ^{32}P

DE

C. HULUȚĂ, CORINA IORDACHE, H. D. SCHELL, O. CONSTANTINESCU și V. BENEA

Experiențele efectuate în țara noastră au dovedit că, la semințele forestiere, efectul stimulator al radiațiilor radioactive se manifestă atît asupra germinației cît și asupra răsăririi, fie că semințele sînt iradiate la surse exterioare, fie că sînt ținute în soluții radioactive *).

Totodată s-a constatat că în cazul folosirii soluțiilor radioactive acțiunea radiațiilor continuă atît asupra semințelor după scoaterea din soluție, cît și asupra puieților rezultați din acestea, în funcție de activitatea specifică și perioada de înjumătățire a radioemițătorului folosit [1], [2], [3], [4], [5].

Dată fiind această situație, a apărut necesară continuarea cercetărilor pentru a se vedea în ce măsură radiațiile radioactive acționează asupra proceselor metabolice care au loc în puieții obținuți din semințele iradiate și pentru corelarea rezultatelor cu cele înregistrate la răsărire.

În comunicarea de față se prezintă rezultatele experiențelor cu privire la acțiunea radiațiilor emise de fosforul radioactiv ^{32}P asupra răsăririi semințelor de *Fraxinus excelsior L.* și asupra proceselor metabolice la puieții obținuți din acestea.

Lucrările cu privire la răsărirea semințelor s-au efectuat în cadrul Institutului de cercetări forestiere, în colaborare cu Institutul de fizică atomică al Academiei R.P.R., iar cercetările biochimice asupra puieților s-au efectuat la Institutul de biochimie al Academiei R.P.R.

---

*) V. Benea, O. Constantinescu și C. Huluță, *Contribuții la studiul efectelor radiațiilor radioactive asupra semințelor forestiere*. Comunicare prezentată la Congresul JUFRO, Viena, sept. 1961.

MATERIAL ȘI METODE

Pentru a studia acțiunea radiațiilor radioactive asupra răsăririi s-au folosit semințe stratificate și nestratificate de *Fraxinus excelsior L.*, de proveniență locală.

Semințele stratificate au fost recoltate la 15.X.1959 și puse la stratificat imediat, în nisip reavăn, afară, în gropi (timpul de stratificare fiind de 415 zile). La începerea experiențelor potența germinativă a fost de 78%.

Semințele nestratificate s-au recoltat la 8.X.1960 și s-au păstrat în vase deschise, în laborator, la o temperatură de 14°C. Potența germinativă la începerea experiențelor a fost de 54%.

La iradierea semințelor s-au folosit soluții active de fosfor radioactiv P^{32}, cu activități specifice între 0,25—1,00 m Cu/l.

După activitățile specifice ale soluțiilor și timpul de tratare al semințelor, variantele luate în cercetare cu semințe stratificate și nestratificate sînt redate în tabela 1.

La prepararea soluțiilor radioactive s-a folosit fosfat disodic (Na_2HPO_4) care conținea fosfor radioactiv ^{32}P.

Pentru martor semințele au fost introduse în soluții de fosfat disodic inactiv, păstrîndu-se concentrația fosfatului din soluțiile active.

Semănatul s-a făcut în pepinieră, între 2 și 27 decembrie 1960, pe un sol lutos-argilos.

Semințele s-au semănat pe straturi, în rigole simple, la 15 cm distanță una de alta în cîte trei repetiții a 50 semințe la fiecare variantă. Adîncimea de semănat a fost de 3,5 cm, iar după semănat culturile s-au acoperit cu un strat de litieră de 3—4 cm grosime, care s-a ridicat la 16 martie 1961. De la semănat (5.XII.1960) și pînă la răsărire (sfîrșitul lunii martie 1961) au căzut precipitații care însumează 101 mm. Temperatura medie lunară, la 5 cm adîncime în sol, a înregistrat începînd cu luna decembrie 1960 următoarele valori: decembrie 4,5°C, ianuarie 0,1°C, februarie 1,2°C, martie 8,7°C.

Pentru cercetările biochimice la puieți, materialul a fost recoltat în două serii și anume:

— după încheierea primei creșteri de primăvară a puieților, la data de 25 mai 1961 (seria I);

— în perioada a doua de creștere a puieților, la data de 19 iunie 1961 (seria II).

Pentru a urmări în ce măsură iradierea semințelor cu ^{32}P se repercutează asupra puieților rezultați din acestea, s-au cercetat unele aspecte din metabolismul lor. În acest scop cercetările s-au îndreptat asupra unor indici biochimici care ar putea să furnizeze date asupra nivelului la care au loc schimbări, în urma acestui tratament, în metabolismul general, și

anume : metabolismul hidraților de carbon prin determinarea capacității de reducere directă și a capacității de reducere în urma hidrolizei acide (diferența între aceste două determinări dînd zaharurile nereducătoare),

Tabela 1

Variantele luate în cercetare în funcție de timpul de tratare (ore), concentrația fosfatului (‰) și activitatea specifică (mCu/l)

	Variante	Timp de tratare ore	Activitatea specifică mCu/l	Concentrația de fosfat inactiv în ‰
Probă	V_{I_1}	24	0,25	
	V_{I_2}	168		
	V_{I_3}	336		
	V_{II_1}	24	0,50	
	V_{II_2}	168		
	V_{II_3}	336		
	V_{III_1}	24	0,75	
	V_{III_2}	168		
	V_{III_3}	336		
	V_{IV_1}	24	1,00	
	V_{IV_2}	168		
	V_{IV_3}	336		
Martor	M_{I_1}	24		0,0287
	M_{I_2}	168		
	M_{I_3}	336		
	M_{II_1}	24		0,1205
	M_{II_2}	168		
	M_{II_3}	336		
	M_{III_1}	24		0,1778
	M_{III_2}	168		
	M_{III_3}	336		
	M_{IV_1}	24		0,2411
	M_{IV_2}	168		
	M_{IV_3}	336		

după metoda Hagedorn-Jensen; fosforul total [6]; azotul total după metoda Parnas-Wagner; apa liberă, legată și totală, precum și variația cantității de substanță uscată. Determinările biochimice s-au făcut pe probe medii recoltate din 5—7 puieți de fiecare variantă, folosindu-se puieții fără rădăcină.

REZULTATE

Acțiunea soluțiilor radioactive de ^{32}P asupra răsăririi semințelor

Semințe stratificate. Analizînd procentul de răsărire în raport cu activitatea specifică a soluțiilor radioactive și timpul de tratare, se desprind următoarele (fig. 1) :

Răsărirea semințelor s-a produs după 91—120 de zile de la semănat.

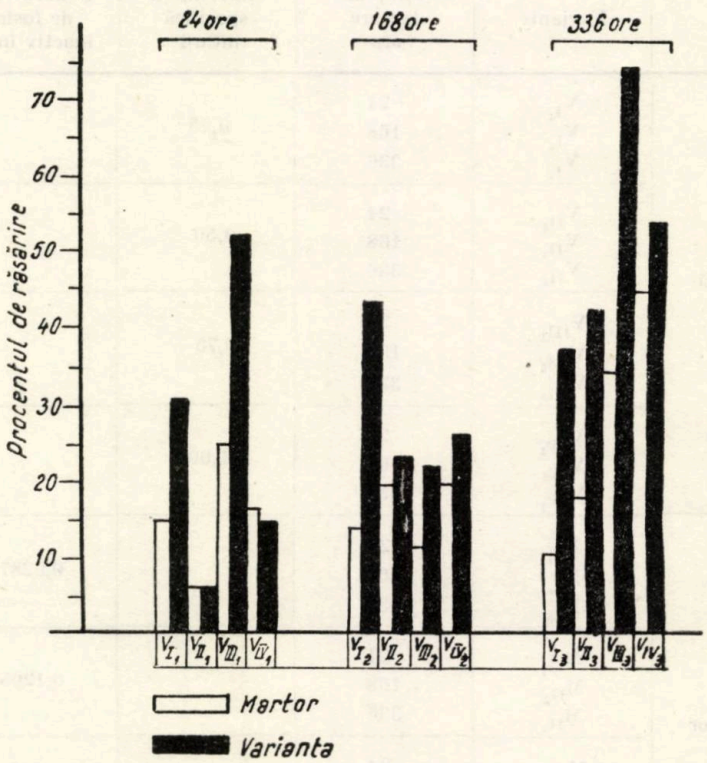


Fig. 1. — Procentul de răsărire la semințele stratificate de *Fraxinus excelsior L.* în raport cu timpul de tratare și activitatea specifică a soluțiilor radioactive folosite.

Se înregistrează un efect stimulator asupra răsăririi semințelor, condiționat atît de activitatea specifică a soluțiilor cît și de timpul de tratare. În funcție de activitatea specifică a soluțiilor, cele mai bune rezultate s-au obținut la varianta V_{III} (activitatea specifică de 0,75 mCu/l), unde procentul de răsărire la semințele tratate a variat între 74 și 24, în timp ce la martor el a fost cuprins între 34 și 12.

În funcție de timpul de tratare, pe primul loc se situează timpul de 336 ore, în care caz procentul de răsărire la semințele tratate are valori cuprinse între 74 și 37, iar la martor între 44 și 10.

Semințe nestratificate. Spre deosebire de semințele stratificate, la cele nestratificate soluțiile radioactive de ^{32}P și timpurile de iradiere folosite nu au provocat în general un efect stimulator asupra răsăririi. Rezultatele obținute în acest caz se prezintă astfel :

Răsărirea semințelor a început după 108—132 de zile de la semănat.

În raport cu activitatea specifică a soluțiilor, cel mai bun procent de răsărire s-a obținut la V_{IV}, cu activitatea specifică de 1,00 mCu/l. Procentul de răsărire înregistrat a fost cuprins între 22 și 4 la semințele tratate și 36 respectiv 20 la martor.

În raport cu timpul de tratare, cele mai bune procente de răsărire s-au obținut la timpul de 168 ore, unde maximul a fost 22 și minimul de 10,5 la semințele tratate, față de 36 respectiv 7,7 la martor.

Acțiunea radiațiilor radioactive asupra proceselor metabolice la puieți

La puieții rezultați din semințe stratificate (*fig. 2—5*). La încheierea primei creșteri, puieții rezultați din semințe iradiate la timpul de 336 ore prezintă pentru activitățile specifice de 0,25, 0,50 și 0,75 mCu/l cele mai mari valori pentru toate formele hidraților de carbon cercetate. Se constată de asemenea că la activitatea specifică de 0,75 și 1,0 mCu/l formele hidraților de carbon respective prezintă valori mai mari decît la martor. În determinările făcute pe puieții recoltați în cea de-a doua fază de creștere, variațiile s-au păstrat în sensul arătat mai sus, avînd însă valori mai scăzute.

În ceea ce privește conținutul în fosfor, variațiile nu urmăresc un anumit sens la puieții recoltați după încheierea primei creșteri, constatîndu-se doar o micșorare în conținutul de fosfor pentru timpul de 336 ore. Se relevă o creștere a conținutului în fosfor la puieții recoltați în faza a doua de creștere.

Valorile azotului total sînt mai ridicate la timpurile de 24 și 168 de ore, la puieții rezultați din semințe tratate ; după încheierea primei creșteri, ele sînt totdeauna mai mari la martor decît la variantele tratate. Valorile obținute la puieții din cea de-a doua fază de creștere sînt puțin mai mari pentru timpurile de 24 și 168 de ore, iar pentru activitatea specifică de 1,0 mCu/l numai la timpul de 336 de ore.

Atît după încheierea primei creșteri cît și în timpul celei de-a doua faze de creștere, pierderea apei libere din puieți are loc în același ritm atît la martor cît și la varianta tratată ; curbele obținute practic se suprapun. În ceea ce privește variația apei legate, nu se constată schimbări sistematice la cele două categorii de puieți diferiți din punct de vedere fenologic. Se poate remarca doar că la puieții intrați în cea de-a doua fază de creștere valorile apei legate sînt mai scăzute.

La puieții rezultați din semințe nestratificate. Capacitatea de reducere directă la puieții recoltați după încheierea primei creșteri înregistrează valori mai mari la variantele tratate pentru activitățile specifice de 0,25 și 0,50 mCu/l, în timp ce la activitățile de 0,75 și 1,00 mCu/l ea este mai

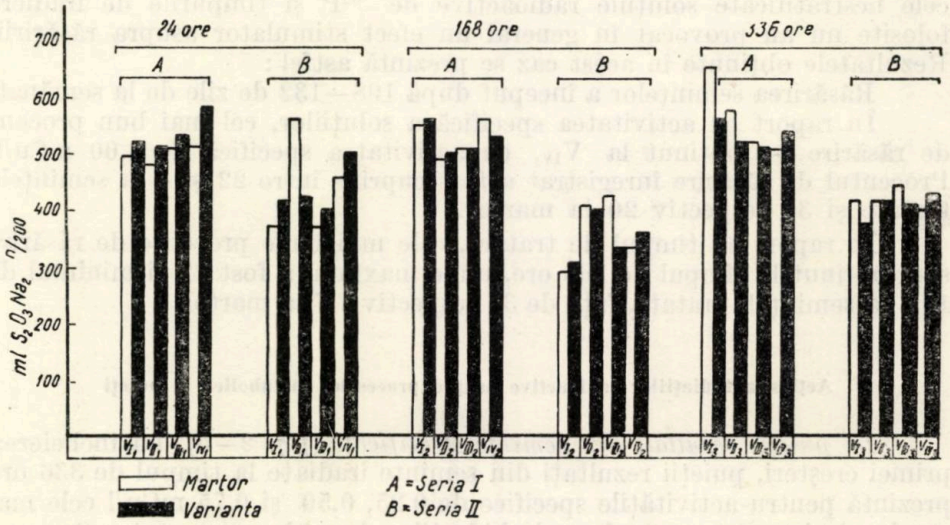


Fig. 2. — Capacitatea de reducere directă pentru 1 g substanţă uscată la puieţii de *Fraxinus excelsior L.* rezultaţi din seminţele stratificate, în raport cu timpul de tratare şi activitatea specifică a soluţiilor radioactive folosite.

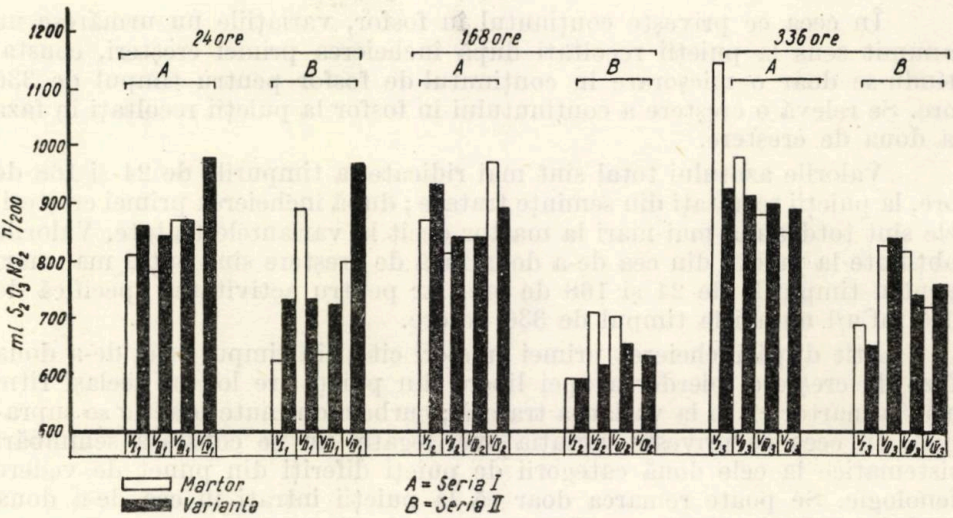


Fig. 3. — Capacitatea de reducere totală în urma hidrolizei acide pentru 1 g substanţă uscată la puieţii de *Fraxinus excelsior L.* rezultaţi din seminţele stratificate, în raport cu timpul de tratare şi activitatea specifică a soluţiilor radioactive folosite.

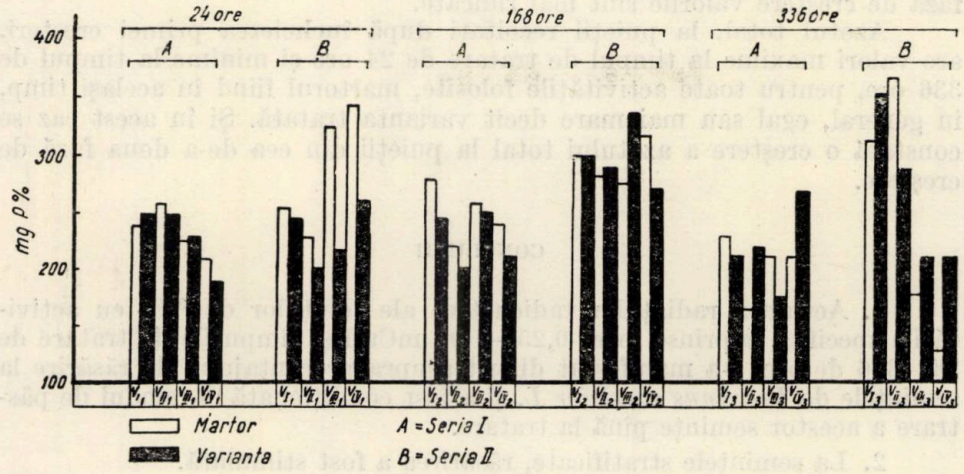


Fig. 4. — Variaţia fosforului total la puieţii de *Fraxinus excelsior L.* rezultaţi din seminţele stratificate, în raport cu timpul de tratare şi activitatea specifică a soluţiilor radioactive folosite.

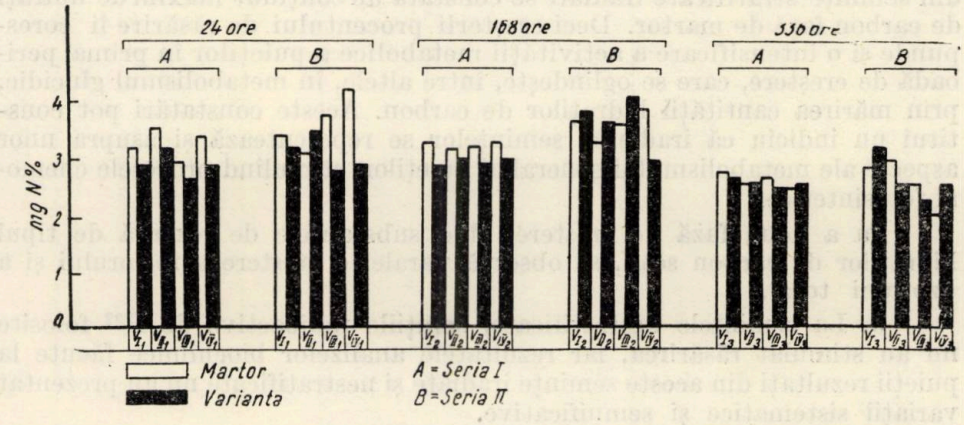


Fig. 5. — Variaţia azotului total la puieţii de *Fraxinus excelsior L.* rezultaţi din seminţele stratificate, în raport cu timpul de tratare şi activitatea specifică a soluţiilor radioactive folosite.

mare la martor. Același rezultate se observă și la puieții din cea de-a doua fază de creștere. Pentru celelalte fracțiuni ale hidraților de carbon nu se observă variații semnificative.

Conținutul în fosfor prezintă valori maxime pentru timpul de 168 ore, la toate cele patru activități specifice. La puieții din cea de-a doua fază de creștere valorile sînt mai ridicate.

Azotul total, la puieții recoltați după încheierea primei creșteri, are valori maxime la timpul de tratare de 24 ore și minime la timpul de 336 ore, pentru toate activitățile folosite, martorul fiind în același timp, în general, egal sau mai mare decît varianta tratată. Și în acest caz se constată o creștere a azotului total la puieții din cea de-a doua fază de creștere.

CONCLUZII

1. Acțiunea radiațiilor radioactive ale soluțiilor de ^{32}P, cu activitățile specifice cuprinse între 0,25—1,00 mCu/l și timpurile de tratare de 24—336 de ore, s-a manifestat diferit asupra procentajului de răsărire la semințele de *Fraxinus excelsior L.* și a fost condiționată de modul de păstrare a acestor semințe pînă la tratare.

2. La semințele stratificate, răsărirea a fost stimulată.

3. În cazul semințelor stratificate, soluția cu activitatea specifică la care s-au înregistrat cele mai bune rezultate a fost aceea de 0,75 mCu/l, iar în ceea ce privește timpul de tratare, la cel de 336 ore, unde procentul de răsărire a fost de 74.

4. În cazul puieților care și-au încheiat prima creștere și au rezultat din semințe stratificate iradiate se constată un conținut maxim de hidrați de carbon față de martor. Deci creșterii procentului de răsărire îi corespunde și o intensificare a activității metabolice a puieților în prima perioadă de creștere, care se oglindește, între altele, în metabolismul glucidic, prin mărirea cantității hidraților de carbon. Aceste constatări pot constitui un indiciu că iradierea semințelor se repercutează și asupra unor aspecte ale metabolismului general al puieților, stimulînd procesele chemo- și fotosintetice.

În a doua fază de creștere, cînd substanțele de rezervă de tipul hidraților de carbon scad, se observă paralel o creștere a fosforului și a azotului total.

5. La semințele nestratificate, soluțiile radioactive de P^{32} folosite nu au stimulat răsărirea, iar rezultatele analizelor biochimice făcute la puieții rezultați din aceste semințe iradiate și nestratificate nu au prezentat variații sistematice și semnificative.

Prezentată la redacție la 18 septembrie 1961

Institutul de cercetări forestiere,
Institutul de biochimie al Academiei R.P.R.,
Institutul de fizică atomică al Academiei R.P.R.,
București

ВСХОД СЕМЯН И ОБМЕН ВЕЩЕСТВ У САЖЕНЦЕВ FRAXINUS EXCELSIOR L., ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ СЕМЯН, ОБРАБОТАННЫХ РАДИОАКТИВНЫМИ РАСТВОРАМИ ^{32}P

РЕЗЮМЕ

Представлены результаты опытов, касающихся действия излучений радиофосфора ^{32}P на всход семян *Fraxinus excelsior L.* и на некоторые обменные процессы у полученных саженцев.

Всход был стимулирован только у пластообразных семян, обработанных радиоактивным фосфатом (наилучший эффект при специфическом действии 0,75 m Cu/l в 336 часов).

В первой фазе роста саженцев констатируется более высокое содержание углеводов, по сравнению с контролем и увеличением фосфора и общего азота во второй фазе роста.

У непластообразных семян не было замечено стимулирование всхода, а результаты биохимических анализов не представили систематических и многозначительных вариаций.

ОБЪЯСНЕНИЕ РИСУНКОВ

Рис. 1. — Процент всхода у пластообразных семян по отношению к времени обработки и специфическому действию раиоактивных растворов.

Рис. 2. — Способность прямого восстановления для 1 г сухого вещества у саженцев *Fraxinus excelsior L.*, полученных из пластоообразных семян по отношению к времени обработки и специфическому действию радиоактивных растворов.

Рис. 3. — Способность полного восстановления, вследствие кислого гидролиза для 1 г сухого вещества у саженцев *Fraxinus excelsior L.*, полученных из пластообразных семян по отношению к времени обработки и специфическому действию радиоактивных растворов.

Рис. 4. — Вариации общего фосфора у саженцев *Fraxinus excelsior L.*, полученных из пластообразных семян по отношению к времени обработки и специфическому действию радиоактивных растворов.

Рис. 5. — Вариации общего азота у саженцев *Fraxinus excelsior L.*, полученных из пластообразных семян по отношению к времени обработки и специфическому действию радиоактивных растворов.

DAS AUFGEHN DER SAMEN UND DER STOFFWECHSEL BEI ESCHENJUNGPFLANZEN (*FRAXINUS EXCELSIOR L.*) DEREN SAMEN MIT RADIOPHOSPHOR ^{32}P – LÖSUNGEN BEHANDELT WURDEN

ZUSAMMENFASSUNG

Es werden die Versuchsergebnisse über die Strahleneinwirkung des Radiophosphors ^{32}P auf das Aufgehn der Eschensamen (*Fraxinus excelsior L.*) und auf einige Prozesse des Stoffwechsels der aus diesen Samen hervorgegangenen Eschenjungpflanzen dargelegt.

Das Aufgehn wurde nur bei geschichteten und mit Radiophosphor behandelten Samen angespornt (bestes Ergebnis bei einer Aktivität von 0,75 mCu/l und einer Dauer von 336 Stunden). Es wird ein höherer Gehalt an Kohlehydraten in der ersten Wachstumsperiode der Jungpflanzen und ein Anwachsen des Phosphors und des Gesammtstickstoffes in der zweiten Wachstumsperiode im Vergleich zu den Kontrollversuchen beobachtet.

Bei den nicht geschichteten und bestrahlten Samen wurde keine Stimulierung des Aufgehens beobachtet: auch die Ergebnisse der an Jungpflanzen ausgeführten biochemischen Analysen wiesen keine systematischen und bemerkenswerten Änderungen auf.

ERKLÄRUNG DER FIGUREN

Fig. 1. — Prozentsatz des Aufgehens bei geschichteten Samen von *Fraxinus excelsior L.* in Bezug auf die Bestrahlungsdauer und die spezifische Aktivität der angewandten radioaktiven Lösungen.

Fig. 2. — Direktes Reduzierungsvermögen für 1 g Trockensubstanz bei Eschenjungpflanzen, deren Samen geschichtet waren, in Bezug auf die Bestrahlungsdauer und die spezifische Aktivität der angewandten radioaktiven Lösungen.

Fig. 3. — Gesammtreduzierungsvermögen nach saurer Hydrolyse für 1 g Trockensubstanz bei Eschenjungpflanzen, deren Samen geschichtet waren, in Bezug auf die Bestrahlungsdauer und die spezifische Aktivität der angewandten radioaktiven Lösungen.

Fig. 4. — Veränderung des Gesammtphosphors bei Eschenjungpflanzen, deren Samen geschichtet waren, in Bezug auf die Bestrahlungsdauer und die spezifische Aktivität der angewandten radioaktiven Lösungen.

Fig. 5. — Veränderung des Gesammtstickstoffes bei Eschenjungpflanzen, deren Samen geschichtet waren, in Bezug auf die Bestrahlungsdauer und die spezifische Aktivität der angewandten radioaktiven Lösungen.

BIBLIOGRAFIE

1. T. BORDEIANU, G. ANGHEL, D. TEODORESCU, *Stimularea germinației semințelor de pomi fructiferi prin iradiere cu fosfor radioactiv.* Tehnica nucleară, *3*, 50 — 55 (1959).
2. D. BUICAN, M. BÎLBÎIE, R. RACOTĂ, AL. IONESCU, *Contribuții la studiul radiostimulării porumbului dublu hibrid.* Tehnica nucleară, *4*, 39—46 (1960).
3. T. I. MAY, H. G. POSEY, *The effect of radiation by Cobalt-60 gama rays on germination of slash pine seed (Pinus elliotii).* J. Forestry, *56*, 854—855 (1958).
4. A. PRIADCENCU, A. MELACRINIS, P. AVRĂMOAIE, *Comportarea în cîmp a semințelor iradiate de grîu , orz, ovăz şi porumb în prima descendență.* Tehnica nucleară, *5*, 44—49 (1959).
5. Н.И. ШАПИРО, Е.М. ВОЧАРОВА, *О двух видах радиационного последействия, выявляемых у семян ячменя.* ДАН, СССР, **133**, *2*, 462—465 (1960).
6. А.И. ЕРМАКОВ, В.В. АРАСИМОВИЧ, М.Н. СМИРНОВА-ИКОННИКОВА, И.К. МУРРИ, *Методы биохимического исследования растений* .Москва, 1952, 488.

ANALIZA CROMATOGRAFICĂ PE RĂȘINI SCHIMBĂTOARE DE IONI A AMINOACIZILOR DIN α-ANATOXINA STAFILOCOCICĂ PURIFICATĂ

DE

A. MARX

Purificarea și concentrarea toxinelor și anatoxinelor microbiene prin precipitarea lor la punctul izoelectric este un procedeu cunoscut. Pentru realizarea punctului izoelectric s-au întrebuințat atît acizi tari (HCl), cît și slabi (CH_3COOH); randamentele obținute cu aceste procedee au fost însă foarte scăzute. Una din cele mai utilizate tehnici este a lui A. Boivin și L. Mesrobeanu [1], bazată pe precipitarea toxinelor și anatoxinelor cu acid tricloracetic, la pH 3,5. Această tehnică dă un randament ridicat pentru anatoxina difterică, dizenterică, dar nu și pentru toxina și anatoxina stafilococică, preparate pe medii semisolide. O îmbunătățire a metodei de purificare pentru anatoxina stafilococică obținută în aceste condiții a fost dată de L. Mesrobeanu și N. Mitrică [2], [6].

Filtratul culturii tulpinei Wood, cultură realizată în atmosferă de bioxid de carbon 30%, este adus la pH 3,5 cu acid tricloracetic, apoi se adiționează 2 volume de alcool 96°. În acest caz apare imediat un precipitat floconos, ușor de separat prin centrifugare. Randamentul este superior celorlalte metode propuse pentru producția de anatoxină stafilococică, Kf-ul scăzut, Lf/mg N ridicat, precum și calitățile imunologice ale anatoxinei stafilococice constituie caracterele principale ale acestui produs, fapt care a determinat aplicarea acestei tehnici pe scară de producție în Institutul „Dr. I. Cantacuzino".

În 1960, L. Mesrobeanu și colaboratori [6] au examinat puritatea α-anatoxinei stafilococice astfel purificate. Examenul de electroforeză liberă, realizat la aparatul tip Kern, a arătat trei fracțiuni la anatoxina brută, pe cînd la cea purificată numai două.

În lucrarea noastră extindem studiul α-anatoxinei stafilococice și asupra compoziției în aminoacizi a componentei proteinice. În acest scop am folosit metoda cromatografică pe rășini schimbătoare de ioni.

TEHNICA DE LUCRU

Cromatografia aminoacizilor s-a efectuat pe rășini polistirenice sulfonate, după metoda Moore și colaboratori [7]. Aparatul utilizat a fost asemănător cu schema dată de J. R. Kimmel și E. L. Smith [5] (fig. 1).

Inițial s-au utilizat alte tipuri de rășini decît cea indicată de S. Moore și colaboratori [7]. Astfel, s-au utilizat Amberlite I.R.C. 50/XE-64 (praf fin), Dowex-50 X_4 (praf fin), Amberlite I.R. 120*) și, în sfîrșit, Amberlite C.G. 120 tip II (200 mesh).

Tehnica de fracționare a particulelor rășinii a fost bazată pe principiul de separare, preconizat de P. B. Hamilton [3] însă printr-o metodă mult simplificată. Pîlnia de separare (de 2 l) în care este așezată rezina a fost legată direct (prin tubul de scurgere al pîlniei) de balonul rezervor. Balonul rezervor cu apă distilată este cotat empiric pentru obținerea unui debit de scurgere corespunzător necesității. Rășina colectată la 25°C, cu un debit de scurgere între 110 — 280 ml/min, a fost folosită pentru umplerea coloanei de 15 cm, iar rășina colectată între 280—560 ml/min a fost întrebuințată pentru coloana de 150 cm. De altfel s-a obținut o separare satisfăcătoare și cu metoda de sedimentare descrisă de S. Moore și colaboratori [7].

Activarea rășinii cu acid clorhidric 4 N și hidroxid de sodiu 2 N a fost efectuată după procedeul S. Moore și W. H. Stein [8], cu diferența că operațiile de înlăturare a lichidului activat nu s-au realizat prin filtrare pe Büchner, ci prin sedimentare și decantare.

Pentru umplerea coloanei de 150 cm s-a urmat tehnica dată de J-R. Kimmel și E.L. Smith [5], prin conectarea la gîtul coloanei de 150 cm a unei alte coloane de aproximativ 7 m, construită din porțiuni de cîte 1,5 m. Pentru umplerea coloanei de 15 cm, s-a aplicat o singură coloană de 1,5 m.

Tampoanele folosite au fost preparate după indicațiile lui S. Moore și colaboratori [7], însă fără folosirea vreunui detergent sau a tiodiglicolului. Spălarea prelungită a rășinii din coloană cu tampon fiert este foarte importantă, deoarece înlătură producerea bulelor care se pot forma în corpul rășinii.

Proba de analizat (1 ml) se introduce cu o pipetă obișnuită, după ce a fost îndepărtat tamponul deasupra rășinii. Apoi, cu ajutorul unui dop de cauciuc găurit, prelungit cu un tub de cauciuc, aplicăm o mică presiune pînă ce nivelul lichidului de analizat se împinge exact la nivelul rășinii. Se repetă operația de mai sus de 2—3 ori cu cîteva fracțiuni de ml de tampon pH 2,2 , apoi se umple coloana de deasupra rășinii cu tamponul de eluare.

Debitul scurgerii este reglat prin presiunea de azot aplicată la coloana mare, iar la coloana mică prin robinetul de la pîlnia de separare (v. figura 1). La ambele rășini s-au recoltat probe de cîte 2 ml. La coloana mare s-a eluat cu un debit de aproximativ 10—12 ml/oră, iar la coloana mică aproximativ

*) Rezina Amberlite I.R. 120, livrată sub formă de grăunțe, a fost mojarată foarte fin, apoi trecută printr-o sită de 75 microni. Restul operațiilor au fost identice ca și pentru celelalte rășini, livrate sub formă de praf fin.

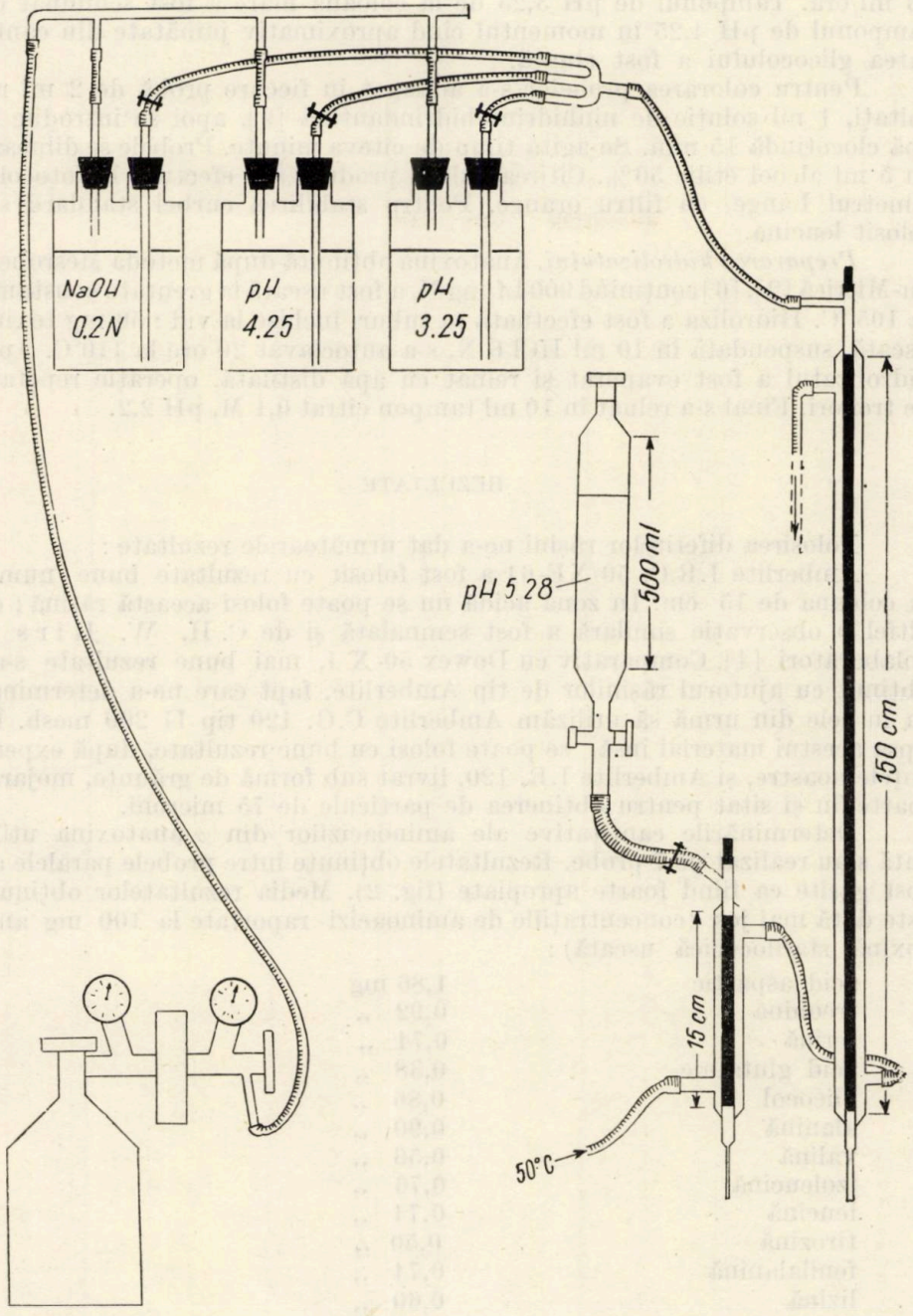


Fig. 1. — Instalație pentru efectuarea analizei cromatografice pe rășini schimbătoare de ioni.

16 ml/oră. Tamponul de pH 3,25 de la coloana mare a fost schimbat cu tamponul de pH 4,25 în momentul cînd aproximativ jumătate din cantitatea glicocolului a fost eluată.

Pentru colorarea probelor s-a adăugat în fiecare probă de 2 ml recoltați, 1 ml soluție de ninhidrină-hidrindantină [9], apoi se introduc în apă clocotindă 15 min. Se agită timp de cîteva minute. Probele se diluează cu 5 ml alcool etilic 50%. Citirea culorii produse s-a efectuat la fotocolorimetrul Lange, cu filtru orange. Pentru stabilirea curbei standard s-a folosit leucina.

Prepararea hidrolizatului. Anatoxina obținută după metoda Mesrobeanu-Mitrică [2], [6] conținînd 900 Lf/mg N, a fost uscată la greutate constantă la 105 °C. Hidroliza a fost efectuată în tuburi închise la vid : 50 mg toxină uscată, suspendată în 10 ml HCl 6 N, s-a autoclavat 20 ore la 110°C. Apoi hidrolizatul a fost evaporat și reluat cu apă distilată, operație repetată de trei ori. Final s-a reluat în 10 ml tampon citrat 0,1 M, pH 2,2.

REZULTATE

Folosirea diferitelor rășini ne-a dat următoarele rezultate :

Amberlite I.R.C. 50/XE-64 a fost folosit cu rezultate bune numai la coloana de 15 cm. În zonă acidă nu se poate folosi această rășină ; de altfel o observație similară a fost semnalată și de C. H. W. Hirs și colaboratori [4]. Comparativ cu Dowex 50-X 4, mai bune rezultate s-au obținut cu ajutorul rășinilor de tip Amberlite, fapt care ne-a determinat ca în cele din urmă să utilizăm Amberlite C.G. 120 tip II 200 mesh. În lipsa acestui material însă, se poate folosi cu bune rezultate, după experiențele noastre, și Amberlite I.R. 120, livrat sub formă de grăunțe, mojarat foarte fin și sitat pentru obținerea de particule de 75 microni.

Determinările cantitative ale aminoacizilor din α-anatoxina utilizată s-au realizat pe 7 probe. Rezultatele obținute între probele paralele au fost găsite ca fiind foarte apropiate (fig. 2). Media rezultatelor obținute este dată mai jos (concentrațiile de aminoacizi raportate la 100 mg anatoxină stafilococică uscată) :

acid aspartic	1,86 mg
treonină	0,92 „
serină	0,74 „
acid glutamic	0,38 „
glicocol	0,86 „
alanină	0,90 „
valină	0,56 „
izoleucină	0,76 „
leucină	0,74 „
tirozină	0,50 „
fenilalanină	0,74 „
lizină	0,60 „
histidină	1,04 „
prolină	urme

Conținutul în azot al α -anatoxinei stafilococice uscate este de 4,5%. Conținutul în reziduu organic este de 92,1%, cenușă 7,9%.

Răspunsul definitiv referitor la compoziția componentei proteice a α-anatoxinei stafilococice se va putea da după obținerea ei în stare cristalizată, lucru ce nu s-a realizat încă, deși se cunosc preparate în stare de

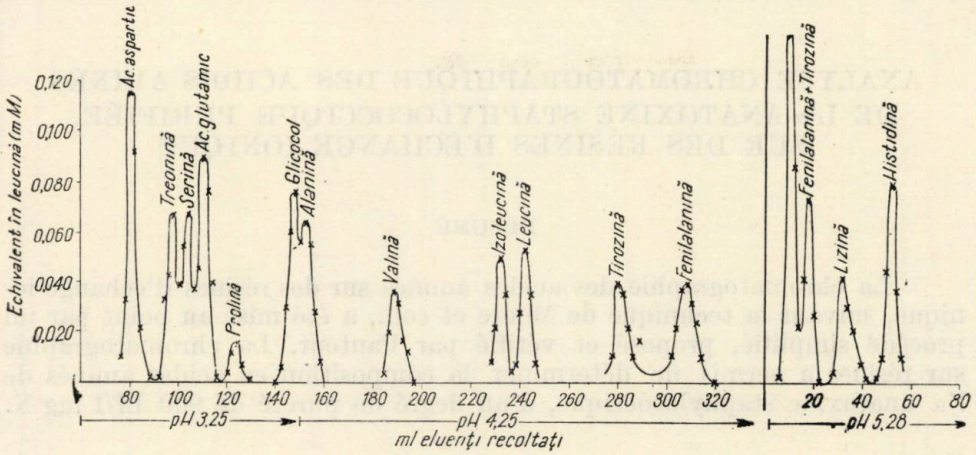


Fig. 2. — Cromatograma aminoacizilor din α-anatoxina stafilococică.

înaltă puritate, ca cel experimentat de A. T u r p i n și colaboratori [10].

Este important examenul aminoacizilor în gradul de puritate utilizat de noi, deoarece în această formă este produsul preparat pe scară de producție (L. M e s r o b e a n u și colaboratori [6]).

Prezentată la redacție la 10 iulie 1961

Secția de fiziologie microbiană
a Institutului „Dr. I. Cantacuzino",
București

ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ НА ИОНООБМЕННЫХ СМОЛАХ АМИНОКИСЛОТ ОЧИЩЕННОГО СТАФИЛОКОККОВОГО α-АНАТОКСИНА

РЕЗЮМЕ

Было выполнено по технике Мура и сотрудников хроматографирование аминокислот на ионообменных смолах, с некоторыми изменениями, предложенными и проверенными автором. При помощи хроматографии на смолах был определен состав аминокислот стафилококкового α-анатоксина со степенью чистоты 900 Lf/1 мг N.

ОБЪЯСНЕНИЕ РИСУНКОВ

Рис. 1. — Установка для выполнения хроматографического анализа на ионообменных смолах.
Рис. 2. — Хроматограмма аминокислот стафилококкового α-анатоксина.

ANALYSE CHROMATOGRAPHIQUE DES ACIDES AMINÉS DE L'α-ANATOXINE STAPHYLOCOCCIQUE PURIFIÉE, SUR DES RÉSINES D'ÉCHANGE IONIQUE

RÉSUMÉ

La chromatographie des acides aminés sur des résines d'échange ionique, suivant la technique de Moore et coll., a été mise au point par un procédé simplifié, proposé et vérifié par l'auteur. La chromatographie sur résines a permis de déterminer la composition en acides aminés de l'α -anatoxine staphylococcique, d'un degré de pureté de 900 Lf/1 mg N.

EXPLICATION DES FIGURES

Fig. 1. — Installation pour l'analyse chromatographique sur résines d'échange ionique.
Fig. 2. — Chromatogramme des acides aminés de l'α-anatoxine staphylococcique.

BIBLIOGRAFIE

1. BOIVIN A., MESROBEANU L., C.R. Soc. Biol., **124**, 442 (1937).
2. COMBIESCU C., NICULESCU M., MESROBEANU L., MITRICĂ N., RETEZEANU A., VREJAN A., Rev. ig. microb. epid., **2**, 18 (1951).
3. HAMILTON P. B., Anal. Chem., **30**, 914 (1958).
4. HIRS C. H. W., MOORE S., STEIN W. H., J. Biol. Chem., **200**, 493, (1953).
5. KIMMEL J. R., SMITH E. L., Bull. Soc. Chim. Biol., **40**, 2049 (1958).
6. MESROBEANU L., ALEXENCO E., MITRICĂ N., Arch. Roum. de Path. Exp., **19**, 211 (1960).
7. MOORE S., SPACKMAN D. H., STEIN W. H., Anal. Chem., **30**, 1185 (1958).
8. MOORE S., STEIN W. H., J. Biol. Chem., **192**, 663 (1951).
9. MOORE S., STEIN W. H., J. Biol. Chem., **211**, 893 (1954).
10. TURPIN A., RELYVELD E. H., PILLET J., RAYNAUD M., Ann. Inst. Pasteur, **87**, 185 (1954).

ACȚIUNEA HIDRAZIDEI ACIDULUI IZONICOTINIC ASUPRA ACTIVITĂȚII REDUCĂTOARE A CELULEI BACTERIENE

DE

EUG. PĂUNESCU

Pentru asimilarea substanțelor nutritive din mediul ambiant, în vederea asigurării desfășurării proceselor energetice și de sinteză, necesare creșterii și multiplicării celulare, integritatea funcțiilor reducătoare este indispensabilă. În acest sens, orice substanță care poate bloca activitatea enzimatică dehidrogenazică va provoca inhibarea capacității de asimilare a substanțelor nutritive din mediul exterior și, concomitent, va stînjeni dezvoltarea celulară. Printre substanțele care exercită un asemenea efect sînt multe dintre antibioticele și chimioterapicele de sinteză.

În cazul hidrazidei acidului izonicotinic (HIN), chimioterapic strict specific față de bacilul tuberculozei, s-a semnalat încă din 1954, de către M. Yamamoto [1], că această substanță poate inhiba activitatea dehidrogenantă a tulpinii BCG, HIN-sensibilă, de *Mycobacterium tuberculosis* var. *bovis*. Acțiunea inhibitorie se manifestă în prezența anumitor substrate, cum sînt : acizii lactic, malic, fumaric, formic, glutamic, piruvic, precum și a etanolului și glucozei. În schimb, inhibiția prin HIN nu are loc în cazul histidinei și acidului succinic, ceea ce poate sugera că efectul HIN se manifestă cu precădere în cazul dehidrogenazelor ce au drept coenzimă difosfopiridin-nucleotidul (DPN). În același sens, lucrările lui W. Kerppola și J. Pätiälä [2] — care au constatat o scădere a piridin-nucleotidelor în sîngele animalelor tuberculoase și o revenire la normal a concentrației acestor substanțe în urma administrării de HIN — pot sugera posibilitatea ca HIN să acționeze prin inhibarea reacțiilor enzimatice în care sînt interesate piridin-nucleotidele (administrarea HIN ar bloca utilizarea intensă a piridin-nucleotidelor, rezultînd creșterea concentrației lor în sînge).

Pe baza ansamblului acestor cercetări este posibil să se emită ipoteza că efectul bacteriostatic al HIN poate fi rezultatul blocării activității dehidrogenazice celulare, la nivelul coenzimei I (DPN).

În cercetări anterioare [3], [4], [5] am constatat și noi — la un număr de 10 tulpini variate de *Mycobacterium tuberculosis* și *paratuberculosis* — că HIN inhibă dehidrogenarea componentelor ciclului acizilor tricarboxilici, care sînt catalizate de către DPN. În plus, însă, am constatat că HIN inhibă și dehidrogenarea unor alte componente (fumaratul și succinatul), procese care nu sînt activate de prezența DPN. Pe de altă parte, la variantele HIN-rezistente activitatea dehidrogenazică (catalizată sau nu de DPN) nu este influențată de prezența HIN (în concentrații de 1000 μg HIN pentru echivalentul a 1 mg microb uscat [3], [1]. De asemenea, studiile întreprinse au arătat că DPN, adăugat la sistemul de reacție, nu poate neutraliza efectul inhibitor al HIN asupra activității reducătoare a bacililor HIN-sensibili.

Rezultatele obținute în aceste cercetări nu au schimbat ipoteza conform căreia acțiunea HIN poate avea la origine efectul inhibitor asupra activității dehidrogenante a celulei bacteriene, dar au demonstrat că acest efect inhibitor nu poate fi pus pe seama interacțiunii dintre HIN și DPN.

Pentru a verifica dacă efectul inhibitor al HIN asupra activității reducătoare a bacilului tuberculozei poate fi considerat ca mecanismul sau mecanismele de bază ale modului de acțiune al acestui chimioterapic, era necesar un studiu mai complet, care să se extindă și asupra altor celule bacteriene, cu sensibilități variate față de HIN.

Este cunoscută sensibilitatea cu totul specială a bacilului tuberculozei față de HIN, spre deosebire de celelalte specii bacteriene. Astfel, o concentrație de 0,02—0,05 μg HIN/ml este bacteriostatică pentru un inocul obișnuit de bacil tuberculos uman sau bovin, în timp ce pentru alte tipuri și specii de *Mycobacterium* (*avium*, *paratuberculosis* etc.) sau de alte bacterii (coci, bacili aerobi neacido-rezistenți etc.) concentrația bacteriostatică de HIN este mult mai mare (între 4 și 800 μg/ml mediu) [6].

În ceea ce privește doza de HIN (raportată la echivalentul unei suspensii bacteriene cu 1 mg extract sec), care realizează inhibiția activității dehidrogenazice, ea este de 350—500 μg HIN pentru bacilul tuberculozei HIN-sensibil și cu mult peste 1000 μg HIN pentru variantele rezistente la 10—20 μg HIN/ml mediu.

În acest sens, dacă ipoteza mecanismului de acțiune al HIN prin inhibarea activității dehidrogenazice este justă, ar urma ca pentru acele tipuri de bacterii pentru care doza bacteriostatică de HIN este mare și concentrația inhibitorie față de activitatea dehidrogenazică să fie mai mare.

În nota de față redăm rezultatele asupra investigațiilor experimentale efectuate pentru lămurirea acestor aspecte ale problemei modului de acțiune al HIN.

MATERIAL ȘI METODĂ

Speciile și tulpinile bacteriene cu care s-a experimentat au fost următoarele :

a) *Bacillus megaterium*, tulpina 5117 (din colecția Institutului „Dr. I. Cantacuzino") ;

b) *Escherichia coli*, tulpina LM streptomicino-sensibilă;

c) *Staphylococcus aureus*, tulpina I—171;

d) *Mycobacterium smegmatis*;

e) *Mycobacterium phlei*;

f) *Mycobacterium tuberculosis* var. *hominis*, tulpina $H_{37}Rv$;

g) *Mycobacterium tuberculosis* $H_{37}Rv$, varianta rezistentă la 20 μg HIN/ml.

Ca medii de cultură s-au folosit: pentru micobacterii mediul sintetic Sauton (cultură de 8—12 zile, în peliculă fină), iar pentru restul tulpinilor bulionul gelozat 2% (cultură de 24 ore).

Determinarea rezistenței la HIN a fiecărei tulpini s-a făcut: în mediu Youmans (metoda lamelor) pentru micobacterii, iar pentru restul tulpinilor pe plăci Petri cu bulion gelozat (metoda rondelelor îmbibate cu diluții de chimioterapic).

Determinarea activității dehidrogenazice și a efectului HIN asupra acestei activități s-a făcut, comparativ, cu ajutorul a trei metode:

a) *Metoda Thunberg* [7]: fiecare sistem conținea: 1 ml tampon fosfat 0,1 M, pH 7,4; 1 ml substrat 0,2 M (sau apă distilată la martor); 1 ml suspensie bacteriană, conținînd echivalentul a 3 mg microb uscat; 0,25 ml HIN (sau apă distilată); 0,5 ml albastru de metilen $2^0/_{00}$. Rezultatele au fost exprimate în numărul de minute necesar reducerii albastrului de metilen, în urma incubării sistemului, în vid, la 37°C.

b) *Metoda cu clorură de trifenil-tetrazoliu* [7]: fiecare sistem conținea: 1 ml tampon fosfat 0,1 M, pH 7,4; 1 ml substrat 0,2 M (sau apă distilată la martor); 1 ml suspensie bacteriană conținînd echivalentul a 3 mg microb uscat; 0,25 ml HIN (sau apă distilată). După 15 min de incubare la 37°C se adăugau 0,5 ml soluție apoasă $2^0/_{00}$ de clorură de trifenil-tetrazoliu (CTT), se incuba încă 20 minute la 37°C și, după răcire bruscă, se adăugau 7 ml acetonă, pentru dizolvarea formazanului format. După agitare și filtrare, lichidul filtrat se colorimetra la fotocolorimetru electric (dr. B. Lange-Berlin) și rezultatele se exprimau în μg formazan format de echivalentul a 1 mg microb uscat.

c) *Metoda Warburg* [7] a fost aplicată în condițiile de anoxibioză menționate anterior [3], fiecare sistem conținînd: 1 ml suspensie bacteriană în tampon fosfat 0,1 M, pH 7,4, 1 ml substrat 0,2 M, 0,2 ml soluție apoasă 1% de KCN, 0,1 ml soluție apoasă 5% de albastru de metilen, 0,7 ml soluție apoasă de HIN (sau apă bidistilată). În cupele centrale ale vaselor de reacție s-au introdus 0,25 ml KOH 15%, în vederea absorbției CO_2 format în cursul reacției. Citirile consumului de O_2 s-au făcut la fiecare 20 min, timp de 2 ore, iar pentru calcularea cantităților consumate s-a utilizat formula Barckroft-Warburg [7]. Pentru exprimarea rezultatelor s-a folosit raportul Q_{0_2} dintre cantitatea de oxigen molecular consumată de suspensia bacilară (echivalentă cu 1 mg microb uscat) în prezența substratului și cantitatea de oxigen molecular consumată de aceeași suspensie bacteriană în absența substratului [3]. Rezultatele probelor paralele, cu HIN, au fost exprimate în același mod.

REZULTATE

Rezultatele experimentale obținute cu cele 3 metode folosite — în cazul utilizării ca substrat a glucozei, acetatului și oxalacetatului — în prezența unor doze de 500 μg HIN/mg microb uscat — sînt redate în tabela 1.

Tabela 1

Acțiunea HIN (500 μg/mg microb uscat) asupra activității dehidrogenazice bacteriene, apreciată prin metodele cu clorură de trifenil-tetrazoliu (CTT), Thunberg și Warburg (rezultatele sînt prezentate sub formă de rapoarte: la numărător — în absența HIN; la numitor — în prezența HIN)

Tulpina	Metoda cu CTT (μg formazan)			Metoda Thunberg (minute necesare decolorării)			Metoda Warburg (Q_{O_2})		
	glucoză	acetat	oxalacetat	glucoză	acetat	oxalacetat	glucoză	acetat	oxalacetat
Mycob. tbc. H_{37} Rv	0/12	0/18	0/16	26/48	37/66	22/39	2,42/1,97	2,35/2,00	2,19/1,53
Mycob. tbc. H_{37} Rv R 20 μg HIN	0/14	0/17	0/18	34/37	41/46	33/32	2,76/2,68	2,47/2,46	2,03/1,98
Mycob. phlei	0/23	0/21	0/24	30/29	30/31	25/29	2,02/2,08	1,29/1,27	1,15/1,10
Mycob. smegmatis	0/20	0/21	0/20	29/27	30/32	21/24	2,14/2,11	1,59/1,56	1,02/0,97
Escherichia coli L.M.	6/47	4/35	8/45	10/20	12/25	9/25	4,38/3,64	3,42/2,91	4,21/3,19
Staphylococcus aureus I—171	0/39	0/42	6/44	7/18	6/18	6/15	5,17/3,90	3,64/3,01	4,79/4,10
B. megaterium 5117	0/35	0/31	0/37	11/16	21/32	12/25	3,48/2,76	2,27/1,72	3,12/1,88

După cum se observă din tabelă, între rezultatele obținute prin metoda cu clorură de trifenil-tetrazoliu (CTT) și metodele Thunberg și Warburg există o discordanță netă; astfel, în timp ce metoda cu CTT arată că prezența HIN mărește cantitatea de formazan format (adică HIN ar activa dehidrogenarea), metodele Thunberg și Warburg indică o inhibiție a activității dehidrogenazice în prezența HIN.

Această discordanță a necesitat ca, înainte de a se stabili corelația dintre dozele minime de HIN ce au efect bacteriostatic și cele ce inhibă activitatea dehidrogenazică, să se studieze cauzele pentru care metoda cu CTT dă rezultate discordante.

Reacția între HIN și CTT (clorura de trifenil-tetrazoliu). Cercetarea multilaterală a reacțiilor posibile dintre componentele sistemului de reacție al metodei cu CTT sînt consemnate în tabela 2, din care rezultă

Tabela 2

Condițiile de reducere a clorurii de trifenil-tetrazoliu (CTT) în prezența HIN

Amestecul supus incubării	Formarea de formazan după un contact la 37°C de	
	5 min	20 min
1 ml apă dist. + 1 ml tampon fosfat pH 7,4 + 0,5 ml CTT 2‰	—	—
2 ml apă dist. + 0,25 ml (1000 μg)HIN + 0,5 ml CTT 2‰	—	—
1 ml apă dist. + 1 ml tampon fosfat pH 7,4 + 0,25 ml (1000 μg) HIN + 0,5 ml CTT 2‰	—	+
1 ml apă dist. + 1 ml tampon fosfat pH 10 + 0,25 ml (1000 μg) HIN + 0,5 ml CTT 2‰	+	++
1 ml apă dist. + 1 ml tampon fosfat pH 5 + 0,25 ml (1000 μg) HIN + 0,5 ml CTT 2‰	—	—
1 ml susp. bacteriană + 1 ml tampon fosfat pH 7,4 + 0,25 ml (1000 μg) HIN + 0,5 ml CTT 2‰	—	—
1 ml susp. bacteriană + 1 ml tampon fosfat pH 7,4 + 0,1 ml glucoză M + 0,25 ml (1000 μg) HIN + 0,5 ml CTT 2‰	—	+

că — *în mediu alcalin — clorura de trifenil-tetrazoliu este redusă la formazan de către hidrazida acidului izonicotinic*, în absența oricărei suspensii bacteriene.

Din aceeași tabelă rezultă că prezența celulei bacteriene (bine spălată în prealabil, sub formă de *resting cells*) inhibă reacția directă dintre CTT și HIN. Adăugarea, însă, atît a suspensiei bacteriene cît și a unui substrat dehidrogenazic (glucoză, acetat, succinat), restabilește condițiile necesare reacției dintre CTT și HIN.

Cercetările complementare, efectuate cu scopul de a elucida acest fenomen, sînt în curs de publicare. Ceea ce trebuie reținut în legătură cu obiectul prezentei lucrări, este faptul că — pentru studiul acțiunii HIN asupra activității dehidrogenazice celulare — textul cu CTT nu este practicabil, deoarece, ca urmare a reacției directe dintre HIN și CTT, rezultatele obținute sînt eronate.

Corelația dintre dozele de HIN bacteriostatice și cele inhibitorii ale activității dehidrogenazice. Pentru stabilirea acestei corelații, au fost determinate dozele minime de HIN ce inhibă activitatea dehidrogenazică (față de glucoză) a suspensiilor bacteriene cu o concentrație echivalentă cu 5 mg microb uscat (pentru *Mycobacterii*) și 3 mg (pentru celelalte tulpini). Pentru determinarea activității dehidrogenazice s-a folosit metoda Thunberg. Rezultatele obținute sînt date în tabela 3.

După cum se observă din tabelă, în cazul *Mycobacteriilor* HIN-rezistența — dobîndită (H_{37} Rv.R 20 μg HIN) sau inițială (*Mycob. phlei* și *Mycob. smegmatis*) — conduce atît la o creștere a pragului de sensibilitate al efectului bacteriostatic al HIN, cît și la creșterea corelativă a rezistenței activității dehidrogenazice la acțiunea inhibitorie a HIN.

În cazul celorlalte specii bacteriene, neacido-rezistente, care au fost studiate (*Bacillus coli*, *Staphylococus aureus* și *B. megaterium*), rezistența foarte mare la bacteriostaza prin HIN nu este însoțită de o creștere la fel

de masivă a pragului de sensibilitate al activității dehidrogenante. Dimpotrivă, în timp ce la *Mycobacteriile* rezistente la 5—20 μg HIN/ml mediu, concentrația de HIN inhibitorie a activității dehidrogenante este între 800 și 1 300 μg, în cazul tulpinilor neacido-rezistente doza bacteriostatică atinge 300—500 μg HIN/ml, în timp ce concentrația inhibitorie a activității dehidrogenante rămîne relativ scăzută (300—500 μg HIN/mg microb uscat).

Tabela 3

Corelația dintre dozele de HIN bacteriostatice și cele inhibitorii ale activității dehidrogenante

Tulpina	Concentrația bacteriostatică de HIN (în μg/ml mediu)	Concentrația de HIN inhibitorie a activității de hidrogenazice (în μg/mg microb uscat)
Mycob. tbc. $H_{37}Rv$	0,02—0,05	200
Mycob. tbc. $H_{37}Rv$ R_{20} μg HIN	20—50	1300
Mycob. phlei	5—20	800
Mycob. smegmatis	1—5	800
Escherichia coli L M	300—500	400
Staphylococcus aureus I-171	300—750	500
B. megaterium 5117	150—400	300

DISCUȚII ȘI CONCLUZII

Din investigațiile întreprinse reiese că hidrazida acidului izonicotinic poate inhiba dezvoltarea (*efect bacteriostatic*) unui mare număr de bacterii. De asemenea, prezența acestui chimioterapic în sistemele de determinare a activității dehidrogenante provoacă inhibiția acestor procese (*efect dehidrogenazic inhibitor*).

În cazul *Mycobacteriilor* HIN-sensibile, doza utilă pentru asigurarea efectului bacteriostatic este deosebit de mică (0,02—0,05 μg HIN/ml mediu), în timp ce doza necesară efectului dehidrogenazic este relativ mai mare (200 μg HIN/mg microb uscat).

Tulpinile de *Mycobacterii* cu rezistență inițială sau dobîndită la efectul bacteriostatic al HIN manifestă o creștere corelativă a pragului de sensibilitate față de efectul dehidrogenazic inhibitor al HIN.

Aceste date ar putea pleda pentru considerarea efectului inhibitor al activității dehidrogenazice ca mecanism de acțiune al HIN.

Determinarea dozelor utile pentru realizarea efectului dehidrogenazic inhibitor la bacterii neacido-rezistente, cu mare rezistență la efectul bacteriostatic, a arătat însă că doza utilă pentru inhibarea activității dehidrogenazice nu este corelată, rămînînd relativ mică (300—500 μg HIN/mg microb uscat).

Aceste date sînt contrare ipotezei conform căreia HIN ar exercita efectul bacteriostatic prin blocarea funcției respiratorii la nivelul proceselor dehidrogenante. De asemenea, aceste date se completează și cu cele constatate anterior [3], [4], [5], care au arătat că nu există antagonism

de tip competitiv între HIN și coenzima piridin-nucleotidică (DPN) a dehidrogenazelor.

Pentru determinarea influenței HIN asupra activității dehidrogenazice celulare, metoda cu clorură de trifenil-tetrazoliu (CTT) nu poate fi utilizată, deoarece între HIN și CTT are loc o reacție directă de reducere, care denaturează rezultatele. Întrucît această reacție poate fi însă utilizată în practică pentru aprecierea cantitativă a dozelor mici de HIN prezente în umorile organismului, ea formează obiectul unor investigații separate.

Prezentată la redacție la 24 martie 1961

Laboratorul de microbiologie și biochimie al Institutului de ftiziologie, București

ДЕЙСТВИЕ ГИДРАЗИДА ИЗОНИКОТИНОВОЙ КИСЛОТЫ НА ВОССТАНОВИТЕЛЬНУЮ СПОСОБНОСТЬ БАКТЕРИАЛЬНОЙ КЛЕТКИ

РЕЗЮМЕ

Гидразид изоникотиновой кислоты (ГИН) оказывает тормозящее действие как на восстанавливающую способность чувствительных по отношению к ГИН бактерий (Mycobacterium tuberculosis var. hominis и bovis), так и на бактерии, считающиеся резистентными по отношению к нему (Mycob. phlei и smegmatis, Bacillus megaterium, Escherichia coli, Staphylococcus aureus) (таблица 1). Все же, тогда как у Mycobacterii доза ГИН, необходимая для торможения дегидрогеназ, возрастает параллельно с бактериостатической дозой, в случае разновидностей бактерий, нерезистентных по отношению к кислотам, бактериостатическая доза ГИН весьма велика, тогда как доза, тормозящая восстанавливающую способность, сравнительно мала (таблица 3).

Для определения влияния, оказываемого ГИН на клеточную восстанавливающую способность, нельзя пользоваться методом хлористого трифенил-тетразолия, так как между последним и ГИН имеет место прямая реакция восстановления (таблица 2).

ACTION DE L'HYDRAZIDE DE L'ACIDE ISONICOTINIQUE SUR L'ACTIVITÉ RÉDUCTRICE DE LA CELLULE BACTÉRIENNE

RÉSUMÉ

L'hydrazide de l'acide isonicotinique (I. N. H.) exerce un effet inhibitoire tant sur l'activité déshydrogénante des bactéries isoniazidosensibles (*Mycobacterium tuberculosis* var. *hominis* et *bovis*), que sur les

bactéries considérées isoniazido-résistantes (*Mycob. phlei* et *smegmatis*, *Bacillus megaterium*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* (tableau 1). Cependant, tandis que chez les Mycobactéries, pour l'inhibition des déshydrogénases, la dose utile d' I. N. H. croît en raison directe de la dose bactériostatique, pour les espèces bactériennes non acido-résistantes, la dose bactériostatique d'I.N.H. est très élevée, tandis que la dose inhibitrice de l'activité des déshydrogénases est relativement basse (tableau 3).

La méthode au chlorure de triphényle-tétrazol (T.T.C.) ne peut être appliquée à la détermination de l'influence de l'I. N.H. sur l'activité des déshydrogénases cellulaires, car une réaction directe de réduction a lieu entre l'I.N.H. et le T.T.C. (tableau 2).

BIBLIOGRAFIE

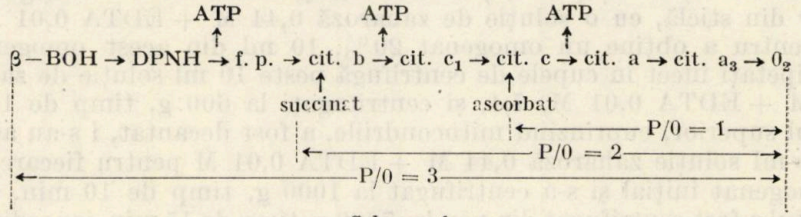
1. M. YAMAMOTO, *Experimental studies on the mechanism of bacteriostatic action of isonicotinic hydrazid. R. II: Influence of I.N.A.H. on the dehydrogenases of B.C.G.*, Kekkaku, **29**, 232 (1954).
2. W. KERPPOLA, J. PÄTIÄLÄ, *Piridinnucleotides (coenzymes I and II) of blood in normal subjects and in various diseases, especially tuberculosis*, Ann. med. exper. biol. fenn. (Helsinki), **27**, suppl. 7 (1954).
3. M. NASTA, EUG. PĂUNESCU, *Influenţa hidrazidei acidului izonicotinic asupra ciclului acizilor tricarboxilici la micobacterii*, Studii şi cercet. de inframicrobiol., microbiol. şi parazitol., **IX**, *4*, 471 (1958).
4. M. NASTA, EUG. PĂUNESCU. P. GEORGESCU, *Efectul combinat al coenzimei I şi hidrazidei asupra catabolismului oxidativ terminal la genul Mycobacterium*, Studii şi cercet. de biochimie, **I**, *4*, 313 (1958); *Modifications métaboliques et pouvoir pathogène de Mycobacterium tuberculosis*, Ann. Inst. Pasteur, **99**, 504 (1960).
5. EUG. PĂUNESCU, *Decarboxilarea piruvatului la Mycobacterium tuberculosis*, Studii şi cercet. de biochimie, **II**, *3* (1959).
6. LYDIA MESROBEANU, EUG. PĂUNESCU, *Fiziologie bacteriană*, Ed. Acad. R.P.R., Bucureşti, 1960.
7. P. GEORGESCU, EUG. PĂUNESCU, *Metode biochimice de diagnostic şi cercetare*, Ed. medicală, Bucureşti, 1960.

OBSERVAȚII ASUPRA CÎTULUI DE FOSFORILARE ÎN MITOCONDRIILE DIN FICATUL DE ȘOBOLAN ÎN SISTEMUL OXIDATIV AL SUCCINATULUI

DE

C. GURBAN și ELENA CRISTEA

Determinarea cîturilor de fosforilare are o importanță deosebită în studiul metabolismului energetic, deoarece valoarea cîturilor P/O dă seama de eficiența captării energiei liberate la trecerea hidrogenului de la substrat la oxigen. Conform datelor experimentale existente [1], [2], [3], [4], se consideră că la oxidarea fosforilantă a DPNH*)-ului se sintetizează trei moli de ATP pentru fiecare atom de oxigen consumat, în locurile indicate în schema 1. Oxidarea fosforilantă a succinatului și a ascorbatului este cuplată cu sinteza numai a 2 moli, respectiv 1 mol de ATP pentru fiecare atom de oxigen consumat.



Schema 1

Totuși, în literatură au apărut unele lucrări în care se citează cîturi de fosforilare mai mari decît cele teoretice admise pînă acum. R. E. Beyer și R. D. Kennison [5] obțin cu mitocondriile din ficatul de pui deficient în vitamină K, cu succinat ca substrat, cîturi P/O mai

*) Prescurtările utilizate sînt următoarele: DPN — difosfopiridin-nucleotid, DPNH — difosfopiridinnucleotid redus, ATP — acid adenozintrifosforic, β-BOH — β-hidroxibutirat, f.p. — flavoproteină, EDTA — acid etilendiamintetraacetic, TRIS — tris-(hidroxi-metil)-aminometan.

mari decît 2. R. D. Dallam şi R. B. Howard [6], cu mitocondrii din ficatul de şobolan şi în prezenţa tiroxinei, folosind ca substrat β-hidroxibutirat, obţin cîturi între 3 şi 4, iar cu ascorbat cîturi P/O mai mari decît 1. De asemenea B. N. Skulacev [4] susţine că ar fi posibil ca funcţionarea lanţului respirator să fie asociată cu esterificarea unui număr mai mare de moli de fosfat anorganic decît era admis pînă acum.

În lucrarea de faţă prezentăm unele date preliminare din care reiese că, utilizînd ca substrat succinat, se pot obţine cîturi P/O mai mari decît 2 şi cu mitocondrii din ficatul de şobolan. Precizăm că în literatură nu au apărut pînă acum lucrări care să menţioneze cîturi P/O mai mari decît 2 în mitocondriile izolate din ficatul de şobolan şi incubate cu succinat.

MATERIAL ŞI METODE

Pentru a obţine un preparat mitocondrial care să-şi păstreze cît mai bine integritatea morfologică şi funcţională, am reunit, din reţetele date în literatură pentru prepararea mitocondriilor, factorii care erau menţionaţi ca fiind cei mai adecvaţi pentru menţinerea proprietăţilor structurale şi enzimatice ale mitocondriilor. Pentru mediul de izolare am folosit zaharoză 0,44 M [7]—[10] şi EDTA 0,01 M, pH 7,4 [11], iar pentru mediul de suspendare zaharoză 0,3 M şi TRIS 0,1 M, pH 7,4 [10], [11]. Pentru a evita contaminarea cu nuclee, am recurs la stratificarea omogenatului, în zaharoză 0,44 M, peste o soluţie de zaharoză 0,55 M [8].

Am lucrat cu mitocondrii izolate din ficat de şobolani adulţi, normali, cu greutăţi între 200—300 g. Animalele au fost decapitate după o lovitură puternică în cap. Ficatul a fost scos repede şi răcit pe gheaţă. Mai departe, toate operaţiile au fost efectuate la temperaturi între 0—3°C. Ficatul tăiat în bucăţi şi spălat de 2—3 ori cu soluţie de zaharoză 0,44 M + EDTA 0,01 M, pH 7,4, a fost omogenizat într-un omogenizator Potter din sticlă, cu o soluţie de zaharoză 0,44 M + EDTA 0,01 M, pH 7,4, pentru a obţine un omogenat 20%. 10 ml din acest omogenat au fost pipetaţi încet în cupele de centrifugă peste 10 ml soluţie de zaharoză 0,55 M + EDTA 0,01 M, 7,4, şi centrifugaţi la 600 g, timp de 15 min. Stratul superior, cuprinzînd mitocondriile, a fost decantat, i s-au adăugat încă 4 ml soluţie zaharoză 0,44 M + EDTA 0,01 M pentru fiecare 10 ml de omogenat iniţial şi s-a centrifugat la 1000 g, timp de 10 min. Supernatantul a fost centrifugat din nou la 7000 g, timp de 15 min, iar sedimentul suspendat în zaharoză 0,44 M + EDTA 0,01 M a fost centrifugat din nou, timp de 15 min, la 7000 g. Sedimentul mitocondrial liber de nuclee, obţinut astfel, a fost suspendat în soluţie de zaharoză 0,3 M + TRIS 0,1 M, pH 7,4, în volumul necesar pentru ca un ml din suspensia finală să corespundă la un gram ficat umed.

Consumul de oxigen a fost determinat cu tehnica obişnuită Warburg. În cupele ţinute în gheaţă s-au introdus următoarele*) : în compartimen-

*) Cifrele reprezintă concentraţii finale în cupă.

tul principal: tampon fosfat de potasiu 0,01 M, pH 7,4; citocrom c 0,02 mM; $MgSO_4$ 0,0067 M; ATP 0,001 M; succinat 0,01 M; EDTA 0,001 M; zaharoză 0,1 M și 0,5 ml suspensie de mitocondrii, cuprinzînd 5—7 mg proteine, iar în diverticul: glucoză 0,03 M și hexokinază 0,3 ml. Cantitatea de hexokinază este suficientă pentru un transfer de fosfat de 8—10 ori mai mare decît cel efectuat. Volumul final este de 3 ml. În fîntîna centrală s-au introdus 0,2 ml KOH 10%. După 7 min de echilibrare în baie, la 25°C, glucoza și hexokinaza au fost trecute din diverticul în compartimentul principal. Consumul de oxigen a fost citit, din 5 în 5 min, timp de 20 min. La sfîrșitul perioadei de incubație s-a adăugat în fiecare cupă 1 ml acid tricloracetic 20% (concentrația finală 5%). S-a corectat apoi consumul de oxigen pentru intervalul de la ultima citire pînă la inactivare. Două cupe au fost inactivate imediat după adăugarea hexokinazei, pentru determinarea fosfatului la timpul 0.

Fosfatul anorganic a fost dozat în probe prin metoda Lowry-Lopez [12] și s-a calculat numărul de μ moli de fosfat anorganic dispăruți, față de probele inactivate la timpul 0. Din consumul de oxigen, exprimat în μ atomi, și consumul de fosfat, exprimat în μ moli, s-a calculat valoarea cîtului P/O, considerîndu-se că fosfatul anorganic esterificat este dat de diferența dintre fosfatul anorganic la timpul 0 și după 20 min de incubare.

În suspensia de mitocondrii proteinele au fost dozate prin metoda biuretului [13] modificată [14].

Reactivi. Hexokinaza a fost obținută din drojdie după metoda lui Sols și colaboratori [15]. Activitatea hexokinazei s-a determinat prin urmărirea scăderii fosfatului labil [16]. Zaharoza folosită a fost zaharoză provenită din comerț și purificată în laborator, prin recristalizări repetate din apă și alcool. Glucoza a fost purificată prin cristalizare din alcool; acidul succinic a fost purificat prin sublimare. Restul reactivilor utilizați sînt reactivi p.a. comerciali.

REZULTATE

În tabela 1 sînt prezentate rezultatele obținute în 11 experiențe. Fiecare determinare s-a făcut în duplicat sau triplicat, iar fiecare cifră reprezintă media valorilor individuale. În coloanele 2 și 3 sînt date consumurile de fosfat, respectiv de oxigen, pe o perioadă de 20 min. Cantitatea de mitocondrii în cupă fiind diferită de la o experiență la alta, și consumul de oxigen, respectiv de fosfat este diferit.

După cum reiese din datele tabelei, cîturile P/O nu depind de mărimea absolută a consumului de oxigen și fosfat, ele sînt însă în mod constant peste 2, cu trei valori peste 2,5. Valoarea medie a cîtului P/O în cele 11 experiențe este 2,3. Cîturile P/O obținute de noi sînt superioare celor obținute cu succinat și cu mitocondrii din ficat de șobolan [2].

În tabela 2 sînt date consumurile de oxigen şi de fosfat într-o experienţă tipică, efectuată în triplicat.

Tabela 1

Cituri de fosforilare în mitocondriile din ficatul de şobolan, în prezenţă de succinat

Fiecare cupă cuprinde : 30 µmoli fosfat de potasiu pH 7,4, 0,06 µmoli citocrom c, 20,1 µmoli $MgSO_4$, 4,2 µmoli KF, 3 µmoli ATP, 30 µmoli succinat, 3 µmoli EDTA, 300 µmoli zaharoză şi 0,5 ml suspensie de mitocondrii, în compartimentul principal; 90 µmoli glucoză şi 0,3 ml hexokinază, în diverticul; volum final 3 ml; în fîntîna centrală se adaugă 0,2 ml KOH 10% ; timp de incubaţie 20 min, temperatura 25°C.

Nr. experienţei	P µmoli	O µatomi	P/O
1	11,1	5,13	2,13
2	18,4	7,92	2,31
3	9,31	3,69	2,52
4	14,1	6,87	2,05
5	10,95	4,11	2,66
6	12,64	5,24	2,41
7	9,90	4,54	2,18
8	11,09	5,05	2,18
9	9,62	4,69	2,05
10	7,07	3,33	2,12
11	10,37	3,78	2,74
Valoarea medie			2,30

Tabela 2

Rezultatele unei experienţe făcute în triplicat, arătînd viteza consumului de oxigen şi fosfatul esterificat; condiţiile de incubare sînt ca în tabela 1

Timpul în min.	Viteza consumului de O_2 (mm) în cupa		
	1	2	3
0— 5	7	8	8
5—10	8	9	9
10—15	8	9	8
15—20	8	8	8
Total	31	34	33
Corecţie pentru 2 min	3,1	3,4	3,3
Total corectat	34,1	37,4	36,3
O_2 consumat (µ atomi)	3,85	3,62	3,87
P esterificat (µ moli)	10,37	10,37	10,37
P/O	2,69	2,89	2,70

După cum reiese din tabelă, în toate cele trei cupe (numerotate 1, 2, 3) consumul de oxigen este liniar în perioada de incubaţie. Corecţia consumului de oxigen s-a făcut presupunîndu-se că acesta a rămas liniar în cele două minute care au trecut de la ultima citire pînă la inactivare.

DISCUȚIA REZULTATELOR

Se admite, în general, că în mitocondriile din ficatul de șobolan, incubate cu succinat în concentrație relativ mare, transformarea fumaratului rezultat din dehidrogenarea succinatului, în malat, și a malatului în oxalacetat, are loc doar într-o măsură neglijabilă [17]. Pe baza acestor fapte, și deoarece cu succinat se obțin cîturi P/O între 1 și 2, s-a admis ca valoare maximă a cîtului P/O pentru acest substrat valoarea 2 (2 moli de ATP sintetizați pentru fiecare atom de oxigen consumat) [2], [4]. R. E. Beyer și R. D. Kennison [5], cercetînd relația dintre timpul de protrombină și fosforilarea oxidativă în mitocondriile din ficatul de pui în avitaminoză K, incubate cu succinat, găsesc cîturi P/O peste 2 (pînă la 2,42). Autorii interpretează aceste rezultate considerînd că în mitocondriile din ficatul de pui deficient în vitamină K, spre deosebire de cele din ficatul de pui normal sau din ficatul de șobolan, ar fi posibilă oxidarea fumaratului la oxalacetat. Această oxidare implică formarea de DPNH care, prin reoxidare, în sistemul fosforilant al DPNH-ului, determină creșterea cîtului P/O. Oxidarea succinatului la oxalacetat are loc conform schemei 2. Pentru fiecare mol de succinat oxidat la oxalacetat se formează 1 mol de succindehidrogenază redusă și 1 mol de DPNH. Oxidarea fosforilantă a succindehidrogenazei reduse dă un cît P/O de maximum 2, pe cîtă vreme cea a DPNH-ului dă un cît maxim de 3 [1], [2], [4]. Interferența celor două sisteme fosforilante va duce la creșterea cîtului P/O la valori peste 2.

$$\text{succinat} + \text{succindehidrogenază} \rightleftharpoons \text{fumarat} + \text{succindehidrogenază redusă} \quad (1)$$

$$\text{fumarat} + H_2O^+ \rightleftharpoons \text{malat} \quad (2)$$

$$\text{malat} + DPN^+ \rightleftharpoons \text{oxalacetat} + DPNH + H^+ \quad (3)$$

Schema 2

Este însă greu de presupus că reacția (3) se desfășoară cu o viteză egală cu a reacției (1), căci succinatul se găsește în mare exces față de malat. Pe de altă parte, cu diferite preparate de țesuturi [18], [19], [21] s-a pus în evidență inhibiția oxidării succinatului de către oxalacetatul acumulat în sistem sau de către cel adăugat. Nici în experiențele lui Beyer și Kennison [5], nici în experiențele noastre nu s-a observat o inhibiție a oxidării succinatului. Într-adevăr, din tabela 2 reiese că, în intervalul de timp cercetat, consumul de oxigen este liniar. Beyer și Kennison explică lipsa inhibiției consumului de oxigen afirmînd că, deși succinatul este oxidat la oxalacetat, totuși acesta din urmă nu ar atinge un nivel inhibitor. În experiențele noastre, în care mediul de incubație cuprinde ATP, Mg^{2+}, EDTA, lipsa unei inhibiții a consumului de oxigen (dacă eventual succinatul a fost oxidat pînă la oxalacetat) este în concordanță cu rezultatele experiențelor lui Tyler [12], [20]. Acesta a arătat că ATP, Mg^{2+} și EDTA, în concentrații de ordinul de mărime al

celor utilizate de noi, suprimă această inhibiţie. Bineînţeles, lipsa unei inhibiţii a oxidării succinatului nu exclude posibilitatea formării oxalacetatului şi, deci, posibilitatea creşterii cîtului P/O la valori peste 2, în urma interferenţei cu sistemul fosforilant al DPNH-ului. Datele noastre experimentale nu ne permit să tragem nici o concluzie cu privire la stadiul pînă la care a fost oxidat succinatul.

Prezenţa EDTA-ului în mediul de incubaţie se pare că nu poate da seama de cîturile de fosforilare mai mari decît 2, obţinute în experienţele noastre. Într-adevăr, alţi cercetători ca H. B. Burch, E. F. Hunter şi colaboratori [23] şi W. C. Hülsmann şi colaboratori [24], utilizează EDTA în mediul de incubaţie în concentraţii comparabile cu cele folosite de noi şi găsesc cu succinat cîturi P/O de 1,42—1,78 respectiv 1,52.

Recent, R. D. Dallam şi R. B. Howard [6], lucrînd cu mitocondrii izolate din ficatul de şobolan, în prezenţa tiroxinei în concentraţii de 10^{-5} M, obţin cu β-hidroxibutirat cîturi de fosforilare între 3 şi 4, iar cu ascorbat cîturi mai mari decît 1. Autorii [6] explică aceste valori crescute ale cîturilor P/O postulînd că între citocromul c şi oxigen ar exista 2 etape de fosforilare şi nu una singură, cît era admis pînă acum. Valori mai mari decît cele „teoretice" semnalează şi C. Waterhouse şi R. F. Witter [22]. Ei obţin cu β-hidroxibutirat cîturi P/O între 3 şi 4, dar nu comentează semnificaţia lor.

Cu toate acestea, în cazul experienţelor noastre, posibilitatea interferenţei cu sistemul oxidativ fosforilant al DPNH-ului nu este exclusă.

CONCLUZII

Utilizînd pentru prepararea mitocondriilor din ficatul de şobolan un mediu ce conţine zaharoză 0,44 M şi EDTA 0,01 M, pH 7,4, iar pentru suspendare un mediu ce conţine zaharoză 0,3 M şi TRIS 0,1 M, pH 7,4, am obţinut un preparat care, cu succinat, dă cîturi de fosforilare superioare valorilor date în literatură pentru mitocondriile din ficatul de şobolan. În determinările noastre, media generală a valorilor cîturilor P/O obţinute cu 11 preparate diferite este 2,30, cu valori între 2,05 şi 2,74.

Aceste valori pot fi *determinate de interferenţa cu sistemul oxidativ fosforilant al DPNH-ului* sau, de existenţa unei etape de fosforilare suplimentară între citocromul c şi oxigen, ceea ce pare însă mai puţin probabil.

Prezentată la redacţie la 7 aprilie 1961

Institutul medico-farmaceutic,
Catedra de biochimie
Bucureşti

НАБЛЮДЕНИЯ ОТНОШЕНИЙ ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ В МИТОХОНДРИЯХ ПЕЧЕНИ КРЫСЫ В ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЕ СУКЦИНАТА

РЕЗЮМЕ

Авторы определили отношение фосфорилирования в митохондриях печени взрослой нормальной крысы в присутствии сукцината. Они нашли, что для 11 препаратов отношение P/O изменяется от 2,05 до 2,74, среднее значение его равно 2,30. Последняя цифра больше, чем значения, полученные другими исследователями для митохондрий печени крысы, в присутствии того же вещества. Авторы считают, что полученные результаты следует отнести либо за счет взаимодействия между фосфорилирующей системой сукцината и DPNH, либо за счет дополнительного этапа фосфорилирования, по сравнению с классической схемой.

OBSERVATIONS SUR LE QUOTIENT DE PHOSPHORYLATION DANS LES MITOCHONDRIES DU FOIE DU RAT — SYSTÈME OXYDATIF DU SUCCINATE

RÉSUMÉ

Les auteurs ont déterminé le quotient de phosphorylation dans les mitochondries du foie du rat adulte, normal, en présence du succinate utilisé comme substrat. Ils ont trouvé, sur 11 préparations, des quotients P/O aux valeurs allant de 2,05 à 2,74, soit une valeur moyenne de 2,30. C'est là un chiffre plus élevé que celui qui a été obtenu par d'autres chercheurs avec les mitochondries du foie de rat en présence du même substrat. Les auteurs estiment que les résultats obtenus seraient dus soit à une interférence du système phosphorylant du succinate avec celui du DPNH, soit à une étape de phosphorylation supplémentaire par rapport au schéma classique.

BIBLIOGRAFIE

1. CHANCEN B., *Acid linked functions of intermediates in oxidative phosphorilation.* J. Biol. Chem, **234**, 1563 (1959).
2. COPENHAVER J. H., LARDY H. A., *Oxidative phosphorylations : pathways and yield in mitochondrial preparation.* J. Biol. Chem., **195**, 225 (1952).
3. NIELSEN S. O., LEHNINGER A. L., *Phosphorylation coupled to the oxydation of ferrocytochrome c.* J. Biol. Chem., **215**, 555 (1955).
4 СКУЛАЧЕВ В.Н., *Фосфорилирование в дыхательной цепи, in Фосфорилирование и функция*, Ленинград, 1960, 33.

5. BEYER R. E., KENNISON R. D., *Relationship between prothrombine time and oxidative phosphorylation in chick liver mitochondria.* Arch. Biochem. Biophys., **84**, 63 (1959).
6. DALLAM R. D., HOWARD R. B., *Thyroxine-enhanced oxidative phosphorylation of rat liver mitochondria.* Biochim. Biophys. Acta., **37**, 188 (1960)).
7. LEHNINGER A. L., RAY B. L., SCHNEIDER M., *The swelling of rat liver mitochondria by thyroxine and its reversal.* J. Biophys. Biochem. Cytol., **5**, 97 (1959).
8. DELUCA H. F., REISER S., STEENBOOK H., KESBERG P., *Vitamina D/o and the structure of kidney mitochondria.* Biochim. Biophys. Acta., **40**, 526 (1960).
9. LEHNINGER A. L., în *Enzymes : Units of biological structure and function.* Acad. Press, New York, 1956, 217.
10. ANDERSON W. W., DALLAM R. D., *The effect of vitamin K_1 on oxidative phosphorylation of rat liver mitochondria irradiatedwith ultraviolet light.* J. Biol. Chem., **234**, 409 (1959).
11. DALLAM R. D., REED J., *The effect of thyroxine on mitochondrial oxidation and swelling.* J. Biol. Chem., **235**, 1183 (1960).
12. LOWRY O. H., LOPEZ J. P., *The determination of inorganic phosphate in the presence of labile phosphate esters.* J. Biol. Chem., **162**, 421 (1946).
13. GORNALL A. G., BARDAWILL C. J., DAVID M. M., *Determination of serum proteins by means of the biuret reaction.* J. Biol. Chem., **177**, 751 (1949).
14. JACOBS E. E., JACOB M., *Uncoupling of oxidative phosphorylation by cadmium ion.* J. Biol. Chem., **223**, 147 (1956).
15. SOLS A., SANCHEZ G. F., VILLAR-PALASI C., ASENSIO C., *Substrate specificity and other properties of backer's yeast hexokinase.* Biochim. Biophys. Acta, **30**, 92 (1958).
16. CRANE R. K., SOLS A., în *Methods in Enzymology*, Ed. Colowick S. P. şi Kaplan N. O., New York, 1955, **I**, 277.
17. LINDBERG O., ERNSTER L., în *Protoplasmatologia.* Springer Verlag Wien, 1954, III/A_4, 42.
18. TYLER D. B., *Effect of citric acid cycle intermediates on oxalacetate utilization and succinate oxidation.* Biochem. J., **76**, 293 (1960).
19. TYLER D. B., *Effect of metal ions and adenosine triphosphate on an oxalacetate-inhibited succinoxidase activity.* J. Biol. Chem., **216**, 395 (1955).
20. TYLER D. B., *Effect of etylenediamine tetracetic acid, magnesium, calcium, on succinate and ketoacid metabolism.* Proc. Soc. Exp. Biol. Med., **88**, 333 (1955).
21. HELLERMAN L., REISS O. K., PARMAR S. S., WEIN, J., LASSER N. L., *Studies on succinate dehydrogenase.* J. Biol. Chem., **235**, 2468 (1960).
22. WATERHOUSE C., WITTER R. F., *The inhibitory action of human plasma and dinitrophenol uncoupling of oxidative phospharylation.* Arch. Biochem. Biophys., **85**, 1 (1959).
23. BURCH H. B., HUNTER E. F., COMBS A. M., SCHUTZ B. A., *Oxidative enzymes and phosphorylation in hepatic mitochondria from riboflavin deficient rats.* J. Biol. Chem., **235**, 1540 (1960).
24. HÜLSMANN W. C., ELLIOT W. B., SLATER E. C., *The nature and mechanism of, uncoupling agents present in mitochrome preparations.* Biochim. Biophys. Acta. **39**, 267 (1960).

V. L. KRETOVICI, *Bazele biochimiei plantelor*, (Основы биохимии растений) Traducere din limba rusă, Institutul de studii romîno-sovietic al Academiei R.P.R., București, 1960, V_1 — 350 p., V_2 — 243 p., 62 figuri, 20 lei.

Manualul *Bazele biochimiei plantelor*, de V. L. Kretovici, reprezintă pentru colegii chimiști și tehnicieni în specialitate precum și pentru studenți un material deosebit de prețios pentru cunoașterea problemelor teoretice și practice de biochimie a plantelor.

Manualul, cuprinzînd 583 de pagini, este împărțit în două volume: primul, de 350 de pagini, tratează partea descriptivă; al doilea, de 243 de pagini, partea dinamică a biochimiei plantelor.

În introducere, autorul face o privire generală asupra dezvoltării biochimiei pînă în zilele noastre, evidențiind marile figuri, în frunte cu Lomonosov, care au adus o contribuție însemnată în lupta contra concepțiilor idealiste în domeniul științelor naturii.

Pornind de la concepția emisă de Fr. Engels, după care viața este modul de existență a corpurilor albuminoide, autorul începe tratarea materiei propuse cu capitolul „Substanțele proteice".

Se descriu reacțiile specifice ale proteinelor și aminoacizii, componenți ai proteinelor, după care se expun ipotezele cu privire la structura chimică a aminoacizilor în molecula proteinei. Sînt prezentate macromoleculele proteinelor fibrilare și globulare și se subliniază rolul substanțelor macroergice: adenozintrifosfat, acidul fosfogliceric, coenzima A etc. Schema structurii moleculei filiforme de acid dezoxiribonucleic, componenta principală a nucleilor celulari, a embrionilor din semințele de grîu etc., a virusurilor filtrante, este însoțită de o descriere a importanței teoretice și practice a nucleoproteidelor.

Sînt apoi expuse capitolele cuprinzînd glucidele, lipidele și pigmenții, vitaminele, substanțele vegetale de origine secundară și enzimele.

Activitatea optică, explicarea fenomenului de mutarotație la zaharuri, structurile polizaharidelor, substanțele pectice etc. sînt expuse strîns legat de practica industriei alimentare. Sub același unghi sînt prezentate lipidele, cerurile, fosfatidele, pigmenții liposolubili (clorofile și carotinoide).

Se stăruie asupra rolului stratului de ceară de pe fructe, a importanței clorofilei în procesul de fotosinteză din frunzele plantelor, a rolului carotenoidelor din stigmate și polenul florilor în procesul de înmulțire a plantelor.

Capitolele privind vitaminele și antivitaminele și rolul vitaminelor și microorganismelor în creșterea și dezvoltarea plantelor evidențiază numeroase aspecte biochimice foarte instructive.

Capitolul „Substanţe vegetale de origine secundară" cuprinde numeroşi produşi (acizi din seria alifatică, compuşi aromatici, glucozide, substanţe tanante, uleiuri eterice şi răşini, alcaloizi, stimulatori ai creşterii plantelor — auxine —, ierbicide, antibiotice, fitoncide) cu o valoare însemnată în practica industrială, alimentară şi în agricultură.

În acelaşi scop sînt prezentaţi stimulatorii de creştere ai plantelor : biotina (acţiunea ei asupra drojdiei în concentraţie de 1 la 400 miliarde), glutamina (activă în cantităţi foarte reduse pentru desăvîrşirea activităţii normale şi înmulţirea microbilor patogeni), acidul p-aminobenzoic (stimulator de creştere a numeroase bacterii), inozita (stimulator de creştere a plantelor superioare) etc.

Sînt indicaţi apoi acizii fenoxiacetic şi 2,4-diclor-fenoxiacetic ca substanţe importante în agricultură, care în anumite concentraţii se folosesc la distrugerea ierburilor în culturile de mei, orez, grîu, sfeclă etc. Sînt descrise antibioticele mai importante : penicilina, streptomicina, gramicidina sovietică, levomicetina, aureomicina.

În capitolul despre enzime se face o expunere teoretică asupra rolului catalitic al enzimelor, care determină sensul şi viteza reacţiilor chimice din metabolism, din celula animală şi vegetală.

Enzimele sînt grupate în două clase mari : enzime constituite exclusiv din substanţă proteică şi enzime constituite dintr-o parte proteică şi una prostetică. Se arată rolul mediului asupra mecanismului de acţiune al enzimelor, în funcţie de durată, temperatură, pH, pentru a se trece la clasificarea şi proprietăţile enzimelor izolate : hidrolaze şi fosforilaze, enzime de scindare, enzime oxido-reductoare, enzime de transport (ferazele) şi enzime de izomerizare.

★

În introducerea volumului al doilea al manualului „Bazele biochimiei plantelor" se scoate în evidenţă corelaţia organismelor vii cu mediul : „Metoda atomilor marcaţi, aplicată larg în prezent în biochimie şi care face posibilă urmărirea soartei substanţelor asimilate în organism", spune V. L. Kretovici, „dovedeşte că orice ţesut, chiar unul în aparenţă fără viaţă, cum ar fi cel osos sau bobul uscat în repaus, se găseşte într-o stare permanentă de metabolism al substanţelor, în reacţie continuă cu mediul ambiant, precum şi cu celelalte organe şi ţesuturi ale organismului".

Folosind concepţia materialist-dialectică, autorul dezvoltă cu multă claritate : fotosinteza şi chemosinteza, transformările reciproce ale hidraţilor de carbon în organismele vegetale ; fermentaţia şi respiraţia ; metabolismul acizilor organici la organismele vegetale ; metabolismul lipidelor ; metabolismul special al aminoacizilor şi cel proteic ; legătura dintre procesele metabolice în organism, cele ale mediului extern cu metabolismul.

După enunţarea concepţiilor lui Timiriazev şi Bach cu privire la rolul clorofilei în procesele de fotosinteză, se dau scheme asupra acestui proces.

Un interes deosebit îl prezintă metabolismul glucidelor din plante : transformarea hidraţilor de carbon în cartoful păstrat la 0°C ; transformarea hidraţilor de carbon în bobul de secară în coacere (V. L. Kretovici) ; scăderea cantităţii de amidon produsă prin germinarea seminţelor şi valoarea scăzută a făinii rezultate din boabele germinate, în care se produc, sub acţiunea amilazei, cantităţi mari de dextrină.

Se evidenţiază ideea emisă de I. P. Borodin despre rolul albuminei în procesul de respiraţie a plantelor.

Date interesante sînt cele cu privire la metabolismul acizilor organici la plantele inferioare şi superioare.

În capitolul asupra metabolismului lipidic, se arată geneza constituenţilor lipidici, în condiţii variate, din hexoze (glucoză, fructoză), pentoze, manită, alcool etilic, acid piruvic,

aldehidă acetică, acid acetic şi inosită. Se dau preţioase date asupra rolului acetilcoenzimei A în formarea acizilor graşi şi asupra transformării grăsimilor în glucide, în condiţiile germinării seminţelor uleioase.

În lumina concepţiei materialist-dialectice sînt expuse capitolele despre asimilarea compuşilor azotoşi de către organismele vegetale; biochimia sintezei aminoacizilor şi proteinelor şi biochimia dezasimilării proteinelor şi aminoacizilor.

Interes prezintă indicaţia asupra rolului substanţelor asemănătoare hemoglobinei în procesele biochimice, la care bacteriile nodozităţilor plantelor leguminoase duc la fixarea azotului molecular.

Se ilustrează, de asemenea, concepţia lui A. I. Danilevski, după care enzimele proteolitice pot efectua nu numai scindarea, hidroliza proteinei, ci şi sinteza ei din produşii formaţi prin scindare.

Pornind de la aceeaşi concepţie, se citează lucrările lui S. E. Bresler asupra posibilităţiii de resintetizare a unor proteine sub acţiunea unor presiuni mari; de asemenea, concepţia lui A. I. Oparin şi a şcolii sale asupra absorbţiei pe mitocondrii şi plastide a aminoacizilor şi enzimelor proteolitice, enzimele pierzînd capacitatea de hidrolizare şi echilibrul reacţiei enzimatice, care se deplasează în direcţia sintezei pectinei (germinarea seminţelor de graminee). Tot aici sînt arătate lucrările lui N. M. Sisakian, în care se face dovada experimentală că cloroplastele reprezintă unul din sediile principale ale sintezei proteinei în plantele verzi, sinteza proteinei realizîndu-se prin participarea resturilor de acid fosforic, bogate în energie, care se găsesc în nucleoproteide.

În ultimul capitol, „Mediul extern şi metabolism", se arată legătura strînsă dintre metabolisme, subliniindu-se rolul proteinelor ca factor central al proceselor metabolice din protoplasmă.

Se dă o schemă completă a reacţiilor care stau la baza fermentaţiei, respiraţiei şi a metabolismului proteic, lipidic şi glucidic, cu participarea vitaminelor şi a compuşilor minerali.

Se expun legăturile strînse ale fenomenelor vitale cu mediul exterior: „Transformările substanţelor care se produc în organism sînt legate strîns nu numai între ele, ci şi cu mediul exterior, în afara căruia organismul nu poate exista" şi se dau exmple asupra posibilităţilor de transformare în sens util a organismelor, folosind în acest scop metode biochimice.

Lucrarea „Bazele biochimiei plantelor" de V. L. Kretovici prezintă un interes foarte mare pentru specialişti şi studenţi, ea legînd cunoştinţele teoretice cu posibilitatea de aplicare practică în lumea vegetală. Ea foloseşte în chip strălucit cuceririle cele mai noi în biochimia plantelor şi reuşeşte să arate înlănţuirea între fenomenele biochimice, pentru că la baza întregii expuneri stă, ca un fir diriguitor, concepţia materialist-dialectică.

Traducerea în limba romînă a acestei lucrări atît de valoroase reprezintă un aport deosebit de preţios în munca de adîncire a cunoştinţelor de biochimie a plantelor.

S. Oeriu

I. PROBLEME GENERALE. METODE DE CERCETARE

924. ATHANASIU A., *Hipoglicemiile funcţionale corticosubcorticale.* Studii şi cercet. med. int., 1961, II, *1*, 21—36.

Referat general cu 40 indicaţii bibliografice.

C. Iordache

925. PĂUNESCU-PODEANU A., *Fibrinogen şi ateroscleroză.* Studii şi cercet. med. int., 1961, **II**, *2*, 151—163.

Referat general cu 88 indicaţii bibliografice.

C. Iordache

926. VELICAN C., *Importanţa studiului mucopolizaharidelor în oncologie.* Studii şi cercet. med. int., 1961, **II**, *3*, 317—324.

Referat general cu 34 indicaţii bibliografice.

C. Iordache

927. HARALAMBIE G., *Modificarea simplă a probei lui Donaggio; influenţa acidului asorbic.* Cultură fizică şi sport, 1961, **XIV**, *1*, 36—40.

Se propune un procedeu semicantitativ simplu de determinare a mucoproteinuriei după Donaggio: acidul ascorbic prezent în urinile de efort dînd o coloraţie albastră cu fosfomolibdatul, ceea ce jenează citirea rezultatului în toate metodele de lucru practicate curent, se recomandă distrugerea prealabilă a substanţelor reducătoare din probe cu $KMnO_4$ la cald. Administrat anterior, acidul ascorbic reduce considerabil valoarea reacţiei, prin scăderea mucoproteinuriei.

G. Haralambie

928. TEODORU A., BUZESCU M., PĂUNESCU E., *Utilitatea testului cu vanadat pentru stabilirea eficienţei dozei de hidrazidă.* Ftiziol., 1961, **X**, *3*, 225—228.

Doza de 5 mg HIN per kg/corp este eficientă numai în 53,84% din cazuri, restul necesitînd doze mai ridicate. S-au stabilit corelaţii între doza de HIN administrată şi evoluţia maladiei.

D. Moţet-Grigoraş

929. POPESCU I. şi ZAMFIRESCU-GHEORGHIU M., *Metabolismul miocardului normal şi patologic.* Med. int., 1960, **XII**, *4*, 499—512.

Referat general cu 22 indicaţii bibliografice.

C. Şelariu

930. GONŢEA I. şi ŞUŢESCU P., *Importanţa alimentaţiei pentru anabolismul proteic.* Med. int., 1960, **XII**, *5*, 643—655.

Referat general cu 44 indicaţii bibliografice.

C. Şelariu

931. BRAUNER R., GALEA GH. I., DEMAYO A. şi ENACHE M., *Tulburările metabolismului lipidic în ateroscleroză.* Med. int., 1960, **XII**, *6*, 809—820.

Referat general fără indicaţii bibliografice.

C. Şelariu

932. COMOROŞAN S. şi MINCU I., *Coenzima A.* Med. int., 1961, **XIII**, *1*, 15—23.

Referat general fără indicaţii bibliografice.

C. Şelariu

933. MITRICĂ N., *Metoda cromatografiei descendente.* Microbiol., parazitol., 1960, *4*, 371—380.

Referat general fără indicaţii bibliografice.

D. Tănăsescu

934. PĂUNESCU E., *Date noi în legătură cu mecanismul biochimic al variabilităţii bacteriene.* Microbiol., parazitol., 1960, *5*, 397—403.

Referat general fără indicaţii bibliografice.

D. Tănăsescu

935. PORTOCALĂ R., *Acidul ribonucleic factor al infectivităţii virusilor.* Microbiol., parazitol., 1960, *6*, 481—490.

Referat general cu 55 indicaţii bibliografice.

D. Tănăsescu

936. MARX D., *Asimilarea aminoacizilor de către bacterii.* Microbiol., parazitol., 1960, *6*, 491—499.

Referat general cu 46 indicaţii bibliografice.

D. Tănăsescu

937. ALTESCU E., *Mecanismul conjugării şi recombinării la Escherichia coli* K_{12}. Microbiol., parazitol., 1960, *6*, 501—511.

Referat general cu 81 indicaţii bibliografice.

D. Tănăsescu

938. HURMUZACHE E., TRIFAN N. şi RUSU I., *Transaminazele serice şi semnificaţia lor în pediatrie.* Pediatria, 1961, **X**, *3*, 199—206.

Referat general cu 24 indicaţii bibliografice.

S. Mihăiescu

939. ŞTEFAN V., *Aspecte ale folosirii izotopilor radioactivi în microbiologia agricolă.* Probl. agric., 1960, *12*, 41—46.

Referat general cu 11 indicaţii bibliografice.

C. Săndulescu

940. ENESCU A. L., *Aparat pentru dozarea esterazelor.* Rev. medico-chirurgic., Iaşi, 1960, **LXIV**, *2*, 433—438.

Se indică schema unui aparat electrometric pentru dozarea esterazelor, în condiţii optime de hidroliză, în medii clare, tulburi sau colorate. Se pot urmări în acelaşi timp 4 reacţii hidrolitice.

A. Batcu

941. VASILIU V. şi FELDIOREANU T., *Sindromul de hipervitaminoză D.* Viaţa med., 1960, **VII**, *8*, 647—654.

Referat general cu 37 indicaţii bibliografice.

D. Moţet-Grigoraş

942. DUMINICĂ A., *Vitamina B_6.* Viaţa med., 1960, **VII**, *9*, 741—742.

Prezentare rezumativă a biochimiei terapeutice.

D. Moţet-Grigoraş

943. ZOSIN C., *Unele aspecte ale acidozei şi alcalozei în clinică.* Viaţa med., 1960, **VII**, *10*, 745—758.

Referat general fără indicaţii bibliografice.

D. Moţet-Grigoraş

944. CONSTANTINESCU C., VEIDENFELD R. şi LESCOVAR A., *Reacţia Sulkowitch,* Viaţa med., 1960, **VII**, *10*, 779—782.

Referat general cu 32 indicaţii bibliografice, completat cu consideraţii asupra valorii acestei reacţii pentru aprecierea calciuriei.

D. Moţet-Grigoraş

945. DOBRESCU N. şi POPESCU O., *Transaminazele şi importanţa lor practică.* Viaţa med., 1960, **VII**, *13*, 949—955.

Referat general fără indicaţii bibliografice.

D. Moţet-Grigoraş

946. IONESCU V., *Unele aspecte enzimologice şi endocrine în hepatite.* Viaţa med., 1960, **VII**, *14*, 1009—1014.

Referat general fără indicaţii bibliografice.

D. *Moţet-Grigoraş*

II. BIOCHIMIA PROTIDELOR

III. BIOCHIMIA GLUCIDELOR

IV. BIOCHIMIA LIPIDELOR

V. ENZIME

947. ZAMFIRESCU-GHEORGHIU M., POPESCU I. GR., VELICAN D. şi MIRON C., *Contribuţii la studiul unor enzime energetice în cursul hepatitei cronice toxice experimentale.* Studii şi cercet. med. int., 1961, **II**, *1*, 111—117.

Se prezintă constatările asupra modificărilor a trei enzime legate de procesele energetice : citocromoxidaza, succindehidraza şi aldolaza, în cursul hepatitei cronice toxice experimentale. Cercetarea s-a făcut pe iepuri martor, iepuri intoxicaţi cu tetraclorură de carbon netrataţi şi trataţi cu vitamina B_{12}. Se observă scăderea intensităţii reacţiilor histochimice ale citocromoxidazei (metoda Gräff) şi succindehidrazei (metoda Seligman-Rutenberg) în ficatul animalelor intoxicate, cît şi a aldolazei hepatice (metoda Lehninger-Bruns modificată de Tovarniski), însoţită de creşteri moderate ale aldolazemiei. Administrarea vitaminei B_{12} ameliorează în oarecare măsură activităţile enzimelor energetice amintite.

C. Iordache

948. LAZĂR M., PENCEA I. şi KORBER S., *Un produs de hialuronidază conservat prin liofilizare.* Rev. medico-chirurgic., Iaşi, 1960, **LXIV**, *4*, 927—930.

Hialuronidaza poate fi conservată timp îndelungat prin liofilizare; fiolele păstrate la temperatura camerei timp de 2 ani şi-au menţinut titrul din momentul preparării. Cele mai bune rezultate au fost obţinute prin liofilizarea produsului nativ, fără adaos de substanţe adjuvante. Folosită în clinică, hialuronidaza liofilizată s-a dovedit activă, cu efect similar celei native, şi nu a provocat accidente.

A. Batcu

VI. VITAMINE, HORMONI ŞI ALŢI COMPUŞI BIOACTIVI

949. FESZT T., GÜNDISCH M. şi ALMÁSI S., *Influenţa vitaminei E asupra activităţii enzimatice a ţesutului hepatic lezat experimental.* Studii şi cercet. med. int., 1960, I, 6, 711—716.

S-a studiat pe 30 şobolani acţiunea vitaminei E asupra leziunilor hepatice cauzate de cloroform. Vitamina E are un efect hepatoprotector faţă de intoxicaţia cu cloroform. La animalele cărora li s-a administrat vitamina E nu a survenit intensificarea activităţii fosfatazei alcaline sau diminuarea activităţii lipazei şi a conţinutului de acizi nucleici, spre deosebire de animalele cărora li s-a administrat numai cloroform. Activitatea enzimatică a fost apreciată prin reacţii histochimice.

C. Iordache

950. PANDELE I., *Conţinutul în caroten (provitamina A) şi în riboflavină (vitamina B_2) al principalelor specii de legume cultivate în ţara noastră.* Studii şi cercet. biol., biol. veget., 1961, XIII, 1, 113—127.

S-au analizat 33 specii de legume şi de diferite plante medicinale şi furajere. S-a constatat o strînsă legătură între acumularea carotenului şi prezenţa clorofilei, plantele verzi fiind surse importante de provitamină A. De aceea, conţinutul de caroten este mai mare în frunze decît în tubercule şi rădăcini (excepţie face morcovul, cu rădăcina bogată în caroten). În cadrul aceleiaşi specii, conţinutul în caroten poate varia cu soiul. Plantele (frunzele) bogate în caroten sînt în general bogate şi în riboflavină.

H. Filipescu

951. BARAC I., *Substanţa de matcă.* Apicultura, 1961, 3, 1—4.

Referat cu 10 indicaţii bibliografice asupra existenţei şi compoziţiei chimice a substanţei de matcă (pherormonului), analogă hormonilor cunoscuţi din fiziologie.

C. Săndulescu

952. MAHANKOV M. K., *Folosirea stimulatorilor de creştere la soiurile cu tipul de flori funcţional femel.* An. rom.-sov., agr. -zoot., 1961, XV, 1 (59), 104—109.

S-a studiat influenţa gibberellinei, acidului 2,4,5-triclorfenoxiacetic şi a α-naftilacetatului de Na asupra procesului de formare a strugurilor, examinîndu-se atît anatomic cît şi chimic boabele partenocarpice formate. Acidul gibberellinic activează cel mai mult procesul de formare a fructelor; el măreşte totodată conţinutul de zahăr şi micşorează aciditatea boabelor.

C. *Săndulescu*

953. RÎSS S. M., *Vitamina B_{12} (Ciancobalamina) şi importanţa ei în clinica de boli interne.* An. rom. -sov., med. gen., 1961, *1*, 90—101.

După o prezentare documentată a datelor moderne asupra biochimismului vitaminei B_{12}, se descrie acţiunea vitaminei B_{12} din punct de vedere clinic şi biochimic în cazul unor maladii, ca : anemii, avitaminoze, boli hepatice, diabet complicat cu arterioscleroză renală ş.a.

D. Moţet-Grigoraş

VII. BIOCHIMIA MICROBILOR. VIRUSURI. BACTERIOFAGI. ANTIBIOTICE. IMUNOCHIMIE

954. MESROBEANU L., PAPAZIAN E. et MITRICĂ N., *Étude du métabolisme leucocytaire au cours de la phagocytose des variantes de staphylocoques. IV. L'activité lipasique et protéolytique du leucocyte en état de repos et en hyperfonction.* Arch. roum. pathol. expér., 1959, **XVIII**, *4*, 543—551.

Activitatea lipazică, urmărită la extracte de leucocite în glicerină, şi cea proteolitică, studiată avînd ca substrat hemoglobină umană şi la pH 7,8, a leucocitelor polinucleare de cobai sînt intensificate net în cursul fagocitozei. Activitatea lipazică este mai intensă în cursul fagocitării tulpinilor patogene.

D. Tănăsescu

955. BOTEZ V., PARASCHIVESCO M., SORU E., SCULPTOREANU J. et ISTRATI M., *Méthodes d'étude du vaccin BCG. 1-er mémoire. Tests métaboliques et enzymatigues.* Arch. roum. pathol. expér., 1959, **XVIII**, *4*, 553—565.

Studiul făcut pe 36 serii de vaccinuri lichide şi 10 liofilizate, în scopul adaptării unui test de apreciere a eficacităţii vaccinului BCG, a arătat că testul cu clorură de trifeniltetrazoliu de dozare a dehidrazelor este cel mai indicat pentru aprecierea procentajului în unităţi vii, dar nu poate fi aplicat pentru vaccinul lichid conservat la temperatura camerei. Determinarea consumului de oxigen este aplicabilă numai pentru vaccinul lichid, cel liofilizat avînd o capacitate respiratorie minimă. Nu s-a putut pune în evidenţă un raport între activitatea catalazică a vaccinului şi conţinutul său în germeni.

D. Tănăsescu

956. ANDREESCO V. et VAINER H., *Recherches biologiques, chimiques et immunochimiques sur le sérum anti-pertussis. Note I. Préparation du sérum anti-pertussis de chèvre.* Arch. roum. pathol. expér., 1960, **IX**, *1*, 19—28.

Imunizarea a fost făcută alternativ cu amestec de antigene extrase din germeni şi cu germeni vii. Toxina brută este formată din substanţe azotate (proteice şi neproteice) şi dintr-un procent mic de glucide, în timp ce antigenele uşor difuzibile conţin cantităţi mai mici de substanţe azotate şi un procent mai ridicat de glucide libere şi polizaharide. Polizaharidele sînt formate din glucozamină, galactoză, glucoză şi acid galacturonic. S-au pus în evidenţă anticorpii precipitanţi faţă de germenul total şi faţă de antigene, fiind localizaţi imunoelectroforetic în γ-globuline pentru antigenul difuzibil şi în γ- şi β-globuline pentru endotoxine. Serul normal de capră nu conţine aglutinine anti-pertussis.

D. Tănăsescu

957. VAINER H. et ANDREESCO V., *Étude chimique, immunochimique et biologique du sérum anti-pertussis de chèvre. Note II. Préparation de la gamma-globuline anti-coquelucheuse.* Arch. roum. pathol. expér., 1960, **IX**, *1*, 29—42.

Prepararea serului s-a făcut prin trei metode : 1) precipitări saline cu Na_2SO_4 sau $(NH_4)_2SO_4$; 2) dializă la +5°C şi 3) electroforetic pe hîrtie. Cea mai indicată metodă este cea prin precipitare salină cu Na_2SO_4. Serul izolat are un titru aglutinant limită de 170 000, o acţiune metabolizantă de 74% şi o putere protectoare de 76%. Liofilizarea şi tratarea cu metiolat nu modifică proprietăţile γ-globulinei.

D. Tănăsescu

958. VAINER H. et ANDREESCO V., *Étude chimique, immunochimique et biologique du sérum anti-pertussis de chèvre. Note III. L'analyse par diffusion et immunoélectrophorèse en gel des sérums normaux et anti-pertussis de chèvre, des γ-globulines et des albumines isolées de ces sérums.* Arch. roum. pathol. expér., 1960, **IX**, *1*, 43—58.

Se observă apariţia unei serii de linii de precipitare specifice şi nespecifice, din care s-a reuşit punerea în evidenţă, prin eliminarea liniilor identice, a cîte unei singure linii specifice dominante pentru fiecare din fracţiunile cercetate. Anticorpii antiglobuline şi cei antialbumine au fost localizaţi în γ-globuline. Pluralitatea liniilor de participare se explică prin heterogenitatea imunologică a fracţiunilor cu care s-a lucrat.

D. Tănăsescu

959. MARX A., *Contribution à l'étude du métabolisme des aminoacides dans la toxicogénèse du bacille* Clostridium Histolyticum. Arch. roum. pathol., expér., 1960, **IX**, *1*, 133—136.

Dinamica aminoacizilor liberi din mediu, urmăriţi paralel cu determinarea titrului toxinei, arată că cistina, cisteina şi prolina, absenţi în mediul neînsămînţat, apar în cursul toxinogenezei, lizina, alanina, tirozina, fenilalanina, valina şi leucina, prezenţi iniţial în mediu, se acumulează,

arginina, serina, glicocolul, acidul glutamic şi treonina dispar din mediu, iar histidina, acidul aspartic, triptofanul şi metionina nu suferă modificări. Se remarcă deci o strînsă relaţie între schimburile calitative ale aminoacizilor şi formarea optimă în mediu a toxinei.

D. Tănăsescu

960. COSTIN-PODHORSKI E. et TOPCIU A., *Étude chimique comparative des différentes types de méningocoques.* Arch. roum. pathol. expér., 1960, **IX**, *1*, 155—160.

S-a studiat compoziţia chimică comparativă a 5 tulpini de diferite tipuri (A, B, C, tip I şi tip III) de meningococi, prin analiza substanţelor organice, rezidii minerale, lipide (totale, etero- şi cloroformo-solubile), glucide totale, acizi nucleici totali, acizi ribo- şi desoxiribonucleici, fosfor (total, acidosolubil, nucleic), azot (total, acidosolubil, nucleic, aminic total, aminic liber, polipeptidic) şi proteine totale. Nu se observă diferenţe marcate, cu excepţia azotului aminic total, liber şi polipeptidic, care au valori net ridicate pentru tipul A (52137) şi tipul I (628).

D. Tănăsescu

961. MESROBEANU L., GEORGESCO M., IEREMIA T., MITRICĂ N., DRĂGHICI D. et MATEESCO M., *Action des toxines microbiennes sur les cultures de tissus. I. Action de l'alphatoxine staphylococcique sur les cultures de tissu embryonnaire humain. Essais de titrage.* Arch., roum. pathol. expér., 1960, **IX**, *2*, 161—171.

Toxina are un efect citostatic net asupra culturilor, în strat monocelular, de embrion uman. Într-o primă fază apare o hipertrofie a celulelor, cu o vacuolizare a citoplasmei, urmează apoi o degenerescenţă cu fenomene regresive, iar final se observă necroze celulare, aglomerări în masă şi detaşări de celule. Efectul citostatic dispare dacă se lucrează cu toxina neutralizată în prealabil cu antitoxina specifică.

D. Tănăsescu

962. SORU E., ISTRATI M., SCULPTOREANU J. et PARASCHIVESCO M., *Étude enzymologique comparative du* Mycobacterium tuberculosis *BCG et ses variantes résistantes à la streptomycine, PAS et INH. I. Transaminases. II. Enzymes d'oxydo-réduction.* Arch. roum. pathol. expér., 1960, **IX**, *2*, 189—197.

Studiul activităţii enzimatice a transaminazelor alanino-α-cetoglutarică, glutamo-piruvică, glutamo-oxalacetică şi asparto-α-cetoglutarică arată o scădere a activităţii de sinteză prin transaminază şi o creştere a degradării acidului glutamic, ca urmare a apariţiei rezistenţei la antibioticele respective. Studiul comparativ al hemenzimelor catalaza, peroxidaza, citocrom

oxidaza, al dehidrogenazelor şi al respiraţiei endogene arată, ca un efect caracteristic, oprirea activităţii peroxidazice sub acţiunea INH. Restul activităţilor nu constituie criterii de diferenţiere a acţiunii celor trei antibiotice.

D. Tănăsescu

963. SĂSĂRMAN A. et HORODNICEANU T., *Recherches sur les pénicillinoses bactériennes. Note III. Titrage de la pénicillinose par une méthode diffusimétrique directe.* Arch. roum. pathol. expér., 1960, **IX**, *4*, 564—570.

Metoda constă în difuziunea enzimei în gel cu 0,1 U.I. penicilină pe o cultură de stafilococi *Oxford*. O unitate de activitate penicilinazică este cantitatea minimă de enzimă capabilă să inactiveze penicilina în concentraţie de 0,1 U.I./ml pe o suprafaţă având 8 mm diametru, adică să permită creşterea abundentă a stafilococilor în zona respectivă. Metoda este simplă, sensibilă şi necesită cantităţi infime de penicilină.

D. Tănăsescu

VIII. BIOCHIMIE VEGETALĂ

964. CHIRILEI H., *Cercetări privitoare la influenţa microelementelor mangan şi cupru asupra metabolismului grîului de toamnă A 26.* Studii şi cercet. biol., biol. veget., 1960, **XII**, *4*, 425—432.

Umectarea boabelor de grîu de toamnă *A 26*, timp de 24 ore înainte de semănare, în soluţii de sulfat de Mn (0,015% — V_1; 0,025% — V_2; 0,050% — V_3) sau de Cu (0,005% — — V_4; 0,010% — V_5; 0,015% — V_6) a favorizat hidratarea plantelor (în special la variantele V_2 şi V_4), acumularea zahărului (cu excepţia variantelor V_3 şi V_6) şi a intensificat respiraţia (cu excepţia variantei V_3).

H. Filipescu

965. POPESCU D. A. şi TĂNASE V., *Despre acţiunea îngrăşămintelor chimice cu N, P şi K asupra unor procese fiziologice la porumb.* Studii şi cercet. biol., biol. veget., 1961, **XIII**, *1*, 59—73.

Administrarea de îngrăşăminte chimice cu N, P şi K, date separat şi în amestec, a determinat o respiraţie pronunţat intensificată la plantele din variantele cu NK şi NP, dar scăzută la variantele cu N şi P, respectiv o intensificare a acumulării substanţei uscate în frunze (cu excepţia variantei cu K).

H. Filipescu

966. STĂNESCU N., *Schimbări fiziologice şi biochimice produse de ciuperca* Ustilago tritici (Pers.) Iensen *în plantele de grîu.* Studii şi cercet. biol., biol. veget., 1961, **XIII**, *1*, 129—140.

Determinările efectuate în decursul întregei perioade de vegetaţie au arătat, la plantele atacate, o intensificare a respiraţiei (maximul de diferenţă fiind atins în faza de înspicare), o creştere a activităţii catalazei şi peroxidazei, o scădere a conţinutului în apă şi o acumulare mai intensă (pînă în faza de burduf) a glucidelor.

H. Filipescu

967. PÎNTEA C., TELEMAN E., LEONTE A. şi UNTU A., *Influenţa unor microelemente asupra creşterii şi dezvoltării florii-soarelui şi porumbului.* Probl. agric., 1961, *6*, 13—20.

S-a cercetat acţiunea U, Cu, Mo, Mn, Zn şi B asupra florii-soarelui şi a Th, Mo, Zn şi U asupra porumbului, constatîndu-se că au influenţă favorabilă asupra producţiei de sămînţă. Asupra compoziţiei chimice (ulei, aciditate şi azot total la floarea-soarelui, proteină brută, pură şi cenuşă la porumb) influenţa este însă practic neglijabilă.

C. Săndulescu

968. RADU I. F., *Conţinutul în azot total, bază pentru determinarea cantitativă şi calitativă a tăierilor la pomi.* Rev. internaţ. agric., 1961, *1*, 83—92.

Se cercetează azotul total din lemn şi diferitele organe vegetative şi fructifere, în funcţie de specie, soi şi vîrstă şi se recomandă ca la tăierile în uscat să nu se depăşească 30—40% din rezerva de azot total a ramurilor, tăierile făcîndu-se în perioada de repaus a pomilor.

C. Săndulescu

969. UNGUREANU L., AIZICOVICI H., PETRESCU Z. şi COCIŞIU M., *Cercetări privind conţinutul în proteine, vitamina C, staniu şi plumb în conserve de legume.* Rev. medico-chirurgic., Iaşi, 1960, **LXIV**, *3*, 655—660.

În timpul procesului tehnologic, vitamina C scade pînă la 46% la mazăre şi 37% la fasole. În timpul conservării timp de 12 luni se constată o uşoară scădere pentru mazăre, iar la fasole nu. Conţinutul proteic nu variază în timpul conservării. Staniul creşte în timpul conservării, dar nu peste limitele admise, iar plumbul lipseşte. Substanţele nutritive difuzînd în proporţii însemnate din boabe în lichid, autorii recomandă utilizarea în alimentaţie a conţinutului total.

A. Balcu

970. ȚERLINO V. V., *Diagnosticul vegetal și nutriția plantelor*. An. rom.-sov., agric.-zoot., 1961, **XV**, *2* (60), 33—53.

Pentru determinarea gradului de asigurare a plantelor cu forme anorganice de azot de rezervă (nitrați), fosfor și potasiu, se propune o micrometodă rapidă de analiză a secțiunilor unor părți din plante. Această metodă permite urmărirea nutriției fiecărui organ al plantei, mai ales în ceea ce privește amoniacul, aminoacizii, albumina și nitrații, precum și fosforul și potasiul. Metoda prevede determinarea colorimetrică a albuminei cu reacția biuretului, a aminoacizilor cu ninhidrină, a nitraților cu difenilamină, a fosforului cu benzidină în acetat de sodiu și a potasiului cu dipicrilamină.

C. Săndulescu

IX. BIOCHIMIE ANIMALĂ

971. PORA E. A. și GHIRCOIAȘU M., *Acțiunea inositolului asupra repartiției $P^{32}O_4H_2Na$ în diferitele organe ale șobolanului alb*. Com. Acad. R.P.R., 1960, **X**, *4*, 315—321.

La animalele tratate timp de 7 zile cu inositol se constată, față de animalele martore, o micșorare a absorbției tegumentare a P^{32}, o păstrare mai îndelungată a P^{32} în ficat și, în primele ore, o mărire a metabolismului mușchilor striați.

M. A. Dimitriu

972. BIENER J., BĂLĂCEANU M. și ALBU N., *Modificări electroforetice ale proteinelor serice și hepatice la embrionul de găină tratat cu ACTH*. Studii și cercet. endocrinol., 1960, *3—4*, 485—489.

Prin administrarea de ACTH embrionilor de găină în a 10-a și a 17-a zi de incubație s-a obținut o scădere apreciabilă a greutății corporale, greutatea relativă a inimii și ficatului fiind crescută. Proteinele sangvine nu prezintă electroforetic variații ; proteinele hepatice solubile suferă modificări asemănătoare cu acelea produse prin administrare de cortizon.

D. Cotariu

973. VAISLER L., ANTONESCU C. și COSTINER E., *Variațiile bilirubinei în bila animalelor tiroxinizate cu tetraclorură de carbon și tratate cu vitamina C*. Studii și cercet. endocrinol., 1960, *3—4*, 563—566.

Administrarea de vitamină C animalelor tiroxinizate sau intoxicate cu tetraclorură de carbon exercită un efect protector asupra celulei hepatice, exprimat prin creșterea formării și eliminării de bilirubină.

D. Cotariu

974. MARCU C., DOBRESCU D., MANOLESCU E şi MANUCHIAN E., *Influenţa funcţiei tiroidiene asupra acţiunii ulcerigene a fenilbutazonei.* Studii şi cercet. fiziol., 1960, **V**, *3*, 501—508.

Acţiunea ulcerigenă a fenilbutazonei este mai marcată la animalele tiroidectomizate (şobolanii) decît la cele normale. La animalele tratate în prealabil cu hormon tiroidian, această acţiune este diminuată. Autorii presupun că hormonul tiroidian influenţează mucoasa gastrică atît direct, prin modificări ale troficităţii, cît şi indirect, prin intermediul sistemului nervos central.

H. D. Schell

975. STERESCU N., COVĂSNEANU Z. şi STANCU A., *Influenţa efortului fizic acut asupra stării funcţionale a tiroidei la şobolani (studii cu ajutorul iodului radioactiv* I^{131}). Studii şi cercet. fiziol., 1960, **V**, *3*, 509—514.

Experienţe efectuate pe 70 şobolani Wistar cărora li s-a injectat intraperitoneal 9,99—10 C I^{131} sub formă de iodură de sodiu, au arătat că efortul fizic intens produce o inhibiţie puternică a diverselor etape ale biosintezei hormonilor tiroidieni în tiroidă. Bazîndu-se pe unele date obţinute anterior, autorii presupun că acest efect s-ar datora unei blocări temporare a secreţiei de hormon tireotrop hipofizar.

H. D. Schell

976. ROSNER B. şi STERESCU N., *Variaţiile concentraţiei acetilcolinei în tiroida cobailor supuşi la efort.* Studii şi cercet. fiziol., 1960, **V**, *3*, 515—521.

La cobaii supuşi efortului prin înot se constată apariţia de fenomene de stimulare tiroidiană, traduse prin creşterea concentraţiei acetilcolinei legate de proteine în tiroidă. Această stimulare colinergică apare la 60 min de la întreruperea efortului şi se menţine aproximativ 2 ore. Efectul acesta demonstrează intervenţia activă a glandei tiroide în perioada imediat următoare terminării efortului.

H. D. Schell

977. ROSNER J., *Scăderea presiunii arteriale prin acţiunea reflexă a xilocainei.* Studii şi cercet. fiziol., 1960, **V**, *3*, 523—526.

Experienţe efectuate pe cîini şi pisici au arătat că xilocaina injectată într-o ansă intestinală perfuzată *in situ* determină scăderea reflexă a presiunii arteriale în circulaţia generală, efect ce este independent de efectul anestezic al produsului studiat.

H. D. Schell

978. PETRESCU D., SCHIAU S., BOROŞ I., GHIZARI E., STOENESCU R. şi DEBĂU M., *Formarea de aglutinine în cursul răspunsului imun secundar, la iepuri iradiaţi cu raze Röntgen.* Studii şi cercet. fiziol., 1960, V, *3*, 565—570.

În urma iradierii cu raze Röntgen cu o doză mică de 150 r sau 300 r, efectuată cu 11 zile înaintea reinoculării antigenului, autorii observă o scădere a intensităţii producerii de aglutinine circulante în cadrul răspunsului imun secundar la animalele iradiate faţă de cele neiradiate. Acest efect inhibitor asupra imunogenezei a fost găsit proporţional cu doza şi durează, pentru dozele aplicate mai sus, aproximativ 28 de zile.

H. D. Schell

979. GRÜNSPAN M. şi SUCMANSCHI M., *Efectul insulinei asupra şocului anafilactic şi eliberării de histamină la cîine.* Studii şi cercet. fiziol., 1960, V, *3*, 571—578.

Autorii arată pe ciinii sensibilizaţi şi în stare de şoc insulinic, că acţiunea prelungită a hipoglicemiei (120 min) are un efect moderator asupra bronhoconstricţiei anafilactice determinată de injectarea antigenului specific.

H. D. Schell

980. CÎRSTEA M., *Cercetări asupra bronhoconstricţiei anafilactice la cîine.* Studii şi cercet. fiziol., 1960, V, *3*, 579—586.

Rezultatele obţinute de autori pe cîini sensibilizaţi la albuş de ou şi ser de cal arată că bronhospasmul anafilactic la cîine este cel mai adesea efectul reacţiei antigen-anticorp ce se desfăşoară la nivelul ţesutului bronhopulmonar însuşi. Acest bronhospasm este mai rar rezultatul acţiunii factorilor bronhoconstrictori (al histaminei în primul rînd), liberaţi în cursul reacţiei anafilactice în sînge sau în alte ţesuturi şi vehiculaţi de sînge la plămîn.

H. D. Schell

981. SIMIONESCU-CARAPANCEA S., CORNEANU M. şi SUHACIU GH., *Cercetări comparative de farmacodinamie nespecifică asupra unor medicamente denumite neuroplegice. Nota III. Actiunea farmacodinamică a pentametoniului (penthonium) asupra organelor efectoare şi asupra sistemului nervos.* Studii şi cercet. fiziol. 1960, V, *3*, 587—600.

Proprietăţile farmacodinamice nespecifice ale produsului studiat sînt asemănătoare cu acelea ale hexametoniului. Prin acţiunea sa specifică produsul poate contracta muşchiul drept abdominal de broască, musculatura netedă a organelor terminale de mamifer, acţionează la

nivelul miocardului fie printr-o creştere, fie printr-o diminuare a proprietăţii inotrope, iar la nivelul vaselor circulaţiei generale, prin hipotensiunea caracteristică neuroplegicilor. Injectat suboccipital creşte excitabilitatea centrilor nervoşi.

H. D. Schell

982. STERESCU N., COVĂSNEANU Z. şi STANCU A., *Modificări ale captării radiofosforului (P^{32}) în suprarenalele cobailor supuşi la efort fizic.* Studii şi cercet. fiziol., 1960, V, *3*, 615 — 621.

Efortul fizic prin înot, timp de o oră, la temperatură constantă, determină la animalele de experienţă (58 de cobai masculi) o creştere importantă a captării P^{32} în glandele suprarenale, care se menţine şi în condiţiile repausului de după efort, putînd fi pusă în evidenţă la o oră de la întreruperea efortului. Intensificarea fosfocaptării în suprarenale este expresia stimulării funcţionale a acestor glande în cursul efortului fizic.

H. D. Schell

983. DOBREANU-ENESCU V., RUNCAN V., STROESCU V., VELICAN D., ŞUŢEANU S., OLINESCU R. şi IOTA C. G., *Tulburări hemodinamice în hepatita cronică şi ciroza hepatică experimentală.* Studii şi cercet. med. int., 1960, I, *5*, 587—599.

La iepurii cu hepatită cronică şi ciroză toxică, produsă prin tetraclorură de carbon, apar modificări hemodinamice sistematice, caracterizate prin creşterea debitului cardiac şi local, prin scăderea irigatului hepatic măsurat. La animalele cu leziunile parenchimatoase şi fibroase cele mai avansate s-au găsit şi cele mai evidente tulburări hemodinamice. Mecanismul care produce aceste tulburări hemodinamice este explicat prin intervenţia unei substanţe vasodilatatoare, probabil de origine hepatică.

C. Iordache

984. LUPU N. GH. şi VELICAN C., *Biologia procesului de scleroză. Nota III. Cercetări experimentale privind rolul tabagismului cronic.* Studii şi cercet. med. int., 1961, II, *2*, 237—250.

La cobaii supuşi timp de 6 luni la inhalaţii zilnice de fum de tutun, s-au constatat o serie de modificări histochimice, histologice şi anatomo-patologice ale interstiţiilor conjunctivo-vasculare ale organelor, modificări care preced dezvoltarea proceselor de scleroză. Se remarcă creşterea mucopolizaharidelor acide şi neutre, a proteinelor birefringente, o alterare a permeabilităţii capilare şi o stimulare a proliferării elementelor endoteliale vasculare. Modificările sînt mai evidente în crosa aortei, miocard, rinichi şi splină şi mai puţin evidente în ficat, hipofiză, suprarenale şi tiroidă.

C. Iordache

985. BĂLĂNESCU I. V., TĂNASE I. şi GEORGESCU C., *Contribuţii la studiul acizilor piruvic şi alfa-cetoglutaric în tuberculoza experimentală şi umană.* Studii şi cercet. med. int., 1961, **II**, *2*, 259—263.

S-au studiat comparativ acizii piruvic şi α-cetoglutaric în sîngele total, la cobai normali şi infectaţi, precum şi la oameni bolnavi şi bacilari. Determinarea acestor acizi s-a făcut după metoda preconizată de B. Mc Ardle. S-a constatat o creştere a acidului piruvic atît în tuberculoza umană cît şi în cea experimentală. Nu se constată modificări ale acidului α-cetoglutaric. Creşterea acidului piruvic poate fi explicată prin reducerea proceselor de oxidare în tuberculoză, legată în parte de tulburări ale funcţiei hepatice şi de anoxia ţesuturilor.

C. Iordache

986. ISTRATE F., PĂUŞESCU E., ELAD-ANTONESCU C. şi ILIESCU E., *Cercetări experimentale asupra aterosclerozei. Acţiunea extractelor de glandă mamară asupra colesterolemiei şi aterogenezei.* Studii şi cercet. med. int., 1961, **II**, *3*, 415—432.

S-au determinat pe iepuri şi pe cîini, în diferite variante experimentale, valorile colesterolemiei înregistrate prin metoda Bloor. S-a constatat că extractele de glandă mamară au efecte diferite, după starea funcţională a glandei utilizate la prepararea extractului. Astfel, extractul de glandă mamară în lactaţie determină o scădere a colesterolemiei, în timp ce extractul de glandă mamară nelactantă determină o creştere a colesterolemiei. Constatările se explică fie prin acumularea în glanda mamară a unor hormoni hipofizari, tiroidieni, corticosuprarenali, sexuali, fie prin acţiunea indirectă a glandei mamare, fie prin intervenţia unui factor mamar specific.

C. Iordache

987. SPÎNUL P., VINTILĂ I., ELIAS ST., ELIAS M. şi POPOVICI S., *Cercetări asupra modificării unor indici biologici la animale (ovine) în cursul adaptării la noi condiţii de mediu. II. Cercetări electroforetice asupra proteinelor serice.* Studii şi cercet. biol., şt. agr., Timişoara, 1960, **VII**, *3 — 4*, 231 — 244.

Transferarea ovinelor de rasă ţigaie în condiţii de altitudine (900—1 300 m) a produs modificări semnificative în tabloul proteinelor serice, nesemnificative în ceea ce priveşte proteinemia totală, precum şi hiperalbuminemie şi hiperglobulinemie puternic semnificative şi o scădere a raportului albumine/globuline.

H. Filipescu

988. BACULINSCHI H., *Constantele fizico chimice şi biologice la unele sorturi de miere de albine din ţara noastră.* Apicultura, 1961, 5, 18—20.

Se prezintă conţinutul în zahăr invertit, glucoză, fructoză, zaharoză, substanţe nezaharoase, dextrină, apă şi cenuşă, indicele diastazic şi aciditatea, precum şi analiza organoleptică la unele sorturi de miere mono- şi poliflore.

C. Săndulescu

989. NICOLAU ŞT. GH. şi BĂDĂNOIU AL., *Acţiunea împiedicătoare a gama-globulinei asupra infecţiei sifilitice experimentale a iepurelui.* Dermatovener., 1960, V, *5*, 391—398.

Dezvoltarea infecţiei sifilitice este împiedicată dacă imediat după sifilizarea animalelor de experienţă cu o tulpină de treponeme *Nichols* patogenă se injectează de 10 ori cîte 2,5 ml γ-globulină/kilocorp şi injecţie. La animalele injectate se constată de asemenea o rezistenţă completă faţă de infecţia treponemică, dacă reinocularea este practicată la 6 săptămîni de la sfîrşitul tratamentului cu γ-globulină. Această rezistenţă la infecţie imprimată cu globulină nu este însă definitivă, întrucît reinoculările efectuate după trei luni dau răspunsuri pozitive.

H. D. Schell

990. CĂPÎLNA S., *Acţiunea unor aminoacizi în ateromatoza experimentală.* Med. int., 1960, XII, *4*, 541—543.

După administrarea leucinei şi izoleucinei la iepurii cu ateromatoză experimentală, timp de două luni, în concentraţie de 100 γ/kg corp se constată o scădere marcată a colesterolemiei, de la 173 la 27 mg %, scăderi mai puţin marcate ale β-lipoproteinelor şi ale lipemiei totale. Dozările de CoA, acid piruvic şi Cu nu au indicat modificări.

C. Şelariu

991. BURUIANĂ L., HADRAG E., BĂIA GH. şi ILIESCU V., *Influenţa alimentaţiei cu cantităţi mari de porumb însilozat asupra echilibrului unor ioni din serul vacilor în lactaţie.* Probl. zoot. vet., 1960, *11*, 12—18.

Alimentaţia timp de 60 de zile cu raţii conţinînd 32,4 kg porumb însilozat, a asigurat menţinerea calcemiei şi fosforemiei în limitele valorilor normale, a provocat o creştere a magnezemiei (în medie 3,37 mg% Mg), a scăzut valorile rapoartelor calciu/fosfor şi calciu/magneziu seric (de la 2,9 la 2,1 respectiv de la 5,7 la 3,1) şi nu a influenţat pe aceea a magneziu/fosfor.

H. Filipescu

992. VERMEŞAN N., *Influenţa schimbării factorilor de incubaţie asupra proceselor biochimice din ouă.* Probl. zoot. vet., 1961, *1*, 37—44.

S-a studiat acţiunea temperaturii de 39,5°C (I), a umidităţii de 75% (II) şi a aeraţiei (III) asupra conţinutului în substanţă uscată şi glutation şi asupra valorilor rH şi pH în decursul dezvoltării embrionare a puiului de găină în incubaţia artificială. Substanţa uscată a înregistrat pierderile cele mai mari la I şi cele mai reduse la II şi III. Procesele de oxido-reducere, deosebit de active între a 9-a şi a 12-a zi de incubaţie, suferă unele modificări ale zilelor de maxim la I, dar nu şi la II, iar pH-ul nu a suferit modificări.

H. Filipescu

993. PIJANOWSKI E., *Cercetări asupra compoziţiei chimice şi valorii tehnologice a laptelui în funcţie de producţia de lapte a vacilor.* Rev. internaţ. agric., 1960, *6*, 128—139.

S-a determinat conţinutul în grăsime, lactoză, proteină totală, albumină, cazeină, lactalbumină, lactoglobulină, cenuşă, Ca, Mg, Cl, NH_3, carotină, axeroftol, tiamină, riboflavină, acid ascorbic şi aciditatea, la grupe paralele de vaci, cu producţii de lapte scăzute şi ridicate. Nivelul producţiei de lapte nu influenţează conţinutul de lactoză şi vitamine al laptelui. Conţinutul celorlalte componente creşte însă cu cît producţia de lapte este mai scăzută.

C. Săndulescu

994. SNEER A., DOLINESCU S. şi HALLER C., *Studiul modificărilor secreţiei gastrice şi a echilibrului ionic sangvin în ocluzia intestinală experimentală la ctine.* Rev. medico-chirurgic., Iaşi, 1960, **LXIV**, *2*, 417—426.

Cercetările efectuate pe animalele cu stomac mic au arătat că în timpul ocluziei, secreţia gastrică suferă modificări rapide şi persistente : volumul secreţiei, aciditatea clorhidrică liberă sînt crescute ; eliminarea roşului neutru este accelerată. Constantele sangvine (sodiu, potasiu, clorurile, rezerva alcalină, hematocritul) nu au suferit modificări.

A. Batcu

X. BIOCHIMIE MEDICALĂ

995. STOICHIŢĂ M., ŢEICAN-GHEORGHIU M., RUNCAN V., POPESCU T. şi NICHIFOR E., *Modificările coagulogramei la bolnavii cu hepatită cronică şi ciroză.* Studii şi cercet. med. int., 1960, I, *5*, 559—566.

Autorii au studiat 50 de bolnavi de ciroză şi 83 bolnavi de hepatită cronică. S-a constatat că modificările coagulogramei variază în dependenţă de gradul leziunii hepatice. Hipocoagularea, hipotrombinemia, trombocitopenia şi accidentele hemoragice sînt mai frecvente la cirotici decît la bolnavii de hepatită cronică, iar scăderea indicelui de protrombină sub 75% poate constitui un criteriu diferenţial între aceste două afecţiuni.

C. Iordache

996. STEINBACH M. şi STAMATOIU I., *Există o tulburare de metabolism lipidic în nevroze?* Studii şi cercet. med. int., 1960, **I**, *5*, 567—569.

În 20 de cazuri studiate de nevroză astenică nu s-au găsit valori serice ridicate pentru colesterol, lipemie şi β-lipoproteine. În nevroza astenică nu există deci vreo tulburare a metabolismului lipidic, decelabilă prin devieri de la normal ale concentraţiei şi repartiţiei lipidelor sangvine.

C. Iordache

997. STOICHIŢĂ M., STEINBACH M. şi ŢEICAN-GHEORGHIU M., *Consideraţii asupra fenomenelor de sensibilizare în cursul heparinoterapiei.* Studii şi cercet. med. int., 1960, **I**, *6*, 655—659.

Se prezintă 5 cazuri clinice în care după administrare prelungită de heparină apare o sensibilizare a organismului. Cum în aceste cazuri s-a pus în evidenţă prezenţa unor intermediari ai polimerizării fibrinogenului, se face ipoteza că această fracţiune a fibrinogenului modificat poate explica apariţia accidentelor vasculare în cursul heparinoterapiei.

C. Iordache

998. PĂUNESCU E. şi BUZESCU M., *Aprecierea hidrazidemiei active cu ajutorul unui test urinar de decelare a H.I.N.* Studii şi cercet. med. int., 1960, **I**, *6*, 701—709.

Se descrie un reactiv pe bază de vanadat pentru punerea în evidenţă a hidrazidei acidului izonicotinic (H.I.N) în urină. Reacţia de culoare este strict specifică pentru H.I.N. liberă, activă tuberculicid; ea nu are loc în prezenţa derivaţilor inactiv antibacilar (acetil-hidrazida) şi nu este falsificată nici în prezenţa altor chimioterapice sau medicamente (P.A.S., streptomicină, TB_1, cloramfenicol, penicilină, amidopirină etc.). Testul urinar fiind pozitiv numai cînd H.I.N. sangvină are o concentraţie peste pragul de eficienţă antituberculoasă, autorii propun înlocuirea aprecierii bacteriologice a hidrazidemiei active, prin aplicarea acestui test.

C. Iordache

999. PĂUN R., MĂRCUŞ N. şi GEORGESCU M., *Secreţia şi motilitatea gastrică în cirozele hepatice.* Studii şi cercet. med. int., 1961, **II**, *1*, 55—62.

Prin determinarea acidităţii libere şi totale s-a cercetat secreţia gastrică la 68 bolnavi de ciroză hepatică, iar la 15 bolnavi s-a cercetat şi motilitatea gastrică. În cirozele hepatice se constată o scădere marcată a valorilor acidităţii gastrice la mai mult de 50% din bolnavii urmă-

riți. De asemenea, se constată absența aciditățiii libere, indiferent de natura mecanică sau chimică a excitantului și indiferent de etiologia cirozei. Se discută mecanismul probabil al reducerii secreției gastrice în ciroză.

C. Iordache

1000. LUPU N. GH., RUNCAN V., ZAMFIRESCU-GHEORGHIU M., PAPPO A. și MIRON C., *Valoarea aldolazemiei pentru urmărirea sechelelor parenchimatoase ale hepatitei epidemice.* Studii și cercet. med. int., 1961, **II**, *2*, 185—1960.

S-a determinat aldolazemia la 156 pacienți prin metoda Tovarniski comparativ cu testele curente de labilitate proteinică serică : timol, Takata, sulfat de cadmiu, formol și Gros. În unele cazuri s-a determinat și proteinemia totală, prin reacția biuretului, cît și fracțiunile electroforetice. S-a observat că aldolazemia este crescută în 39% din cazuri. Cele mai mari valori s-au constatat la pacienții examinați în primul an de la hepatita epidemică acută. În alte 14 cazuri creșterea aldolazemiei a constituit singurul indiciu obiectiv de boală, în raport cu datele clinice obiective și cu celelalte teste biologice explorate.

C. Iordache

1001. MICU D., GROZEA P., MAXIMILIAN S., SAFIRESCU E., GOCIU M. și MATEESCU D., *Contribuții la studiul citologic și enzimocitochimic al ganglionului normal și patologic. Nota I. Ganglionul normal.* Studii și cercet. med. int., 1961, **II**, *2*, 219—226.

Pe 23 ganglioni umani s-a determinat adenograma și aspectele enzimocitochimice normale. Pentru studiul enzimocitochimic s-au determinat : oxidazele fixe (metoda Gömöri), acidul ribonucleic (metodele Haenell și Seman), acidul desoxiribonucleic (metoda Hotchkiss Mc Manus) și lipidele totale (metoda modificată după Romeis). Autorii consideră că aceste date complexe vor ajuta la aprecierea corectă a debutului unei inflamații acute, a instalării unei infecții cronice sau a apariției tulburărilor datorate unui proces cu evoluție malignă.

C. Iordache

1002. LUPU N. GH., GROZEA P., ZAMFIRESCU-GHEORGHIU M., OLARU C. și SIGHETEA E., *Contribuții la studiul aldolazemiei în unele hemopatii maligne.* Studii și cercet. med., int., 1961, **II**, *3*, 325—329.

S-a urmărit la 33 bolnavi valoarea aldolazemiei în sîngele medular și periferic (metoda Lehninger-Bruns, modificată de Tovarniski și Volniskaia). În mod normal, aldolaza medulară este mai activă decît cea periferică. Aldolaza periferică crește în unele mieloleucoze cronice. Nu se întîlnesc variații semnificative ale valorilor medulo-periferice în boala Hodgkin.

C. Iordache

1003. MICU D., GROZEA P., SAFIRESCU E., MAXIMILIAN S., GOCIU M. şi MATEESCU D., *Contribuţii la studiul citologic şi enzimocitochimic al ganglionului normal şi patologic. Nota II. Ganglionul de inflamaţie acută.* Studii şi cercet. med. int., 1961, II, *3*, 351—359.

Studiul citologic şi enzimocitochimic a 56 ganglioni, prelevaţi de la 44 bolnavi cu diferite adenopatii, arată o serie de modificări care apar mai ales la nivelul celulelor reticulo-histocitare caracteristice pentru ganglionul bolnav. Apariţia unei bazofilii intense, creşterea acizilor ribonucleici şi a numărului de mitoze poate constitui semnul unei inflamaţii acute.

C. Iordache

1004. POPESCU I., ZAMFIRESCU-GHEORGHIU M., DOBREANU-ENESCU V., MAXIMILIAN S. şi HARNAGEA P., *Variaţiile glutationului sangvin în insuficienţa cardiacă.* Studii şi cercet. med. int., 1961, II, *3*, 361—376.

Glutationemia a fost cercetată la 55 persoane, printre care 10 martori şi 45 bolnavi cu insuficienţe cardiace de diferite forme şi grade. S-a folosit metoda iodometrică Woodward-Fry pentru determinarea glutationemiei, metoda fotometrică Weichselbaum pentru determinarea proteinemiei şi electroforegrame pentru fracţiuni proteice. În 29 cazuri de insuficienţă cardiacă se constată o scădere a glutationemiei totale şi a indexului Gabbe. Unii bolnavi au prezentat disproteinemie cu hipergamaglobulinemie şi glutationul oxidat foarte scăzut. În alte 16 cazuri glutationemia este normală sau la limita inferioară a normalului, cu creşterea indexului lui Gabbe.

C. Iordache

1005. HARNAGEA P., OLINESCU R. şi SUŢIANU A., *Efectul diuretic al clorotiazidei în insuficienţa cardiacă şi ciroza hepatică.* Studii şi cercet. med. int., 1961, II, *3*, 377—393.

S-a studiat efectul diuretic al clorotiazidei la 13 bolnavi, dintre care 9 cu insuficienţă cardiacă congestivă şi 4 cu ciroză hepatică ascitică. În urină s-a evaluat: densitatea, pH-ul, ureea, sodiul, clorul, potasiul, aciditatea titrabilă şi bicarbonatul. S-a determinat de asemenea natremia, cloremia, potasemia, rezerva alcalină, ureea sangvină şi hemograma. S-a constatat efectul favorabil al diureticului prin creşterea eliminării de urină. creşterea moderată a pH-ului urinar, creşterea eliminării ureei şi mai ales a sodiului şi potasiului.

C. Iordache

1006. MĂRCUŞ N., PĂUN R., URSEA N., POPESCU T. şi ŞUŢEANU ST., *Cercetări asupra secreţiei gastrice în hepatita cronică.* Studii şi cercet. med. int., 1961, II, *3*, 395—399.

S-a determinat aciditatea liberă și totală la 81 bolnavi de hepatită cronică. Valorile obținute fiind inferioare celor normale, se ajunge la concluzia că această tulburare a secreției este de ordin funcțional.

C. Iordache

1007. USUNOFF G., BOJINOV S. et GEORGIEV I., *Données anatomocliniques et électrophorétiques des fractions proteiques, dans le liquide céphalo-rachidien et le sérum sanguin, concernant l'encéphalite progressive hypercinétique subaiguë en Bulgarie.* Studii și cercet. neur., 1960, **V**, *2—3*, 481—487.

Examenul chimic a 13 cazuri studiate a pus în evidență o diminuare a valorilor relative ale albuminelor și o creștere netă a valorilor relative ale globulinelor γ, atît în sînge cît și în lichidul cefalo-rahidian. La examenul anatomo-patologic s-a constatat o varietate de reacții inflamatorii, a căror gravitate nu a fost întotdeauna paralelă cu durata și gravitatea tabloului clinic.

N. Luță-Moldoveanu

1008. APPEL E., *Aspecte ale fosfatazelor în creerul uman.* Studii și cercet. neur., 1960, **V**, *4*, 675—680.

S-a cercetat activitatea fosfatazei alcaline și acide pe material necropsic prin metoda histochimică Gőmőri. Fosfataza alcalină prezentă în celulele nervoase, pe nucleol, membrana nucleară și neurofile, este abundentă la nivelul capilarelor și este distribuită în creerul uman pe straturi. Distribuția fosfatazei acide în creerul uman nu diferă de cea constatată la alte specii de animale, găsindu-se în toate elementele celulei nervoase, în substanța interneuronală și în substanța albă. Se presupune că enzima participă, de la caz la caz la metabolismul nucleoproteinic, fosfolipidic sau al hidraților de carbon, fiind implicată și în transmiterea impulsului nervos.

N. Luță-Moldoveanu

1009. NICOLAU ST. GH., HOMORICEANU D., AVRAM A. și COJOCARU I., *Primele cazuri de tricofiție, microsporie și favus, tratate cu griseofulvină la centrul de dermatovenerologie.* Dermatovener., 1960, **V**, *3*, 207—216.

Autorii raportează despre rezultatele excepționale obținute cu antibioticul griseofulvină în tratamentul dermatomicozelor ale pielii de cap enumerate în titlu. Se dă și o ipoteză asupra mecanismului de vindecare a polimicozelor cu griseofulvină.

H. D. Schell

1010. LONGHIN S. și ENE-POPESCU C., *Sensibilizarea și desensibilizarea la largactil.* Dermatovener., 1960, **V**, *3*, 237—242.

Se redau 10 observaţii clinice dintre care una la un pacient tratat cu largactil şi 9 la personal medico-sanitar. La prima categorie de sensibilizaţi tratamentul constă în întreruperea medicamentaţiei cu largactil, la cea de a doua în desensibilizarea specifică cu soluţii de largactil. Se propun măsuri de protecţie în scopuri profilactice sau chiar schimbarea locului de muncă atunci cînd desensibilizarea specifică nu este eficace.

H. D. Schell

1011. BĂLUŞ L., *Glicogenul în pielea sănătoasă şi patologică.* Dermatovener., 1960, V, 3, 249—257.

Folosind metoda Hotchkiss-McManus, modificată după Montagna, autorul găseşte în pielea normală cantităţi mici de glicogen în epiderm, în foliculul pilos şi în glandele sudoripare de tip ecrin. În pielea patologică se găsesc cantităţi mărite de glicogen în dermatozele caracterizate printr-un proces de hiperplazie epidermică, fără însă ca acest polizaharid să fie un element specific imaginei histologice a afectiunii cutanate. Se discută posibilitatea unei sinteze locale a glicogenului, precum şi rolul acestuia în diferite metabolisme cutanate.

H. D. Schell

1012. BOLOGA F. I., DIMA O şi GĂVRUŞ R., *Electroforeza sangvină în diagnosticul sifilisului serorezistent şi ireductibil.* Dermatovener., 1960, V, 3, 259—268.

Metoda electroforetică s-a dovedit foarte utilă pentru diferenţierea serologiilor rezistente de serologiile ireductibile.

H. D. Schell

1013. SMELOV N. S., REZNIKOVA L. S şi TROFIMOVA C. I., *Reacţiile serologice la bolnavii cu lupus eritematos.* Dermatovener., 1960, V, 5, 385—390.

Autorii studiază valoarea cîtorva reacţii serologice (reacţia Coombs, proba cu tripsină şi reacţia Jones-Thomson) în diagnosticul lupusului eritematos şi arată că sub raportul rezultatelor pozitive, cea mai sensibilă s-a dovedit reacţia Coombs, urmată de proba cu tripsină; cea mai puţin sensibilă a fost reacţia Jones-Thomson.

H. D. Schell

1014. NĂSTASE GH. şi MUNTEANU M., *Hipodermita nodulară hiperalergică trenantă tratată prin infiltraţii lombare cu novocaină.* Dermatovener., 1960, V, 5, 405—410.

Infiltraţiile lombare cu novocainã după metoda Vişnevski au o acţiune favorabilă în maladia susnumită.

H. D. Schell

1015. BOLOGA E. I., *Accident cerebral — encefalită virotică de natură biotropică directă — în cursul tratamentului cu sulfone (promină) al unui caz de dermatită polimorfă dureroasă Dühring-Brocq.* Dermatovener., 1960, V, *5*, 419—432.

Autorul descrie un caz de biotropism direct observat cu ocazia folosirii sulfonei promină în tratamentul bolii Dühring.

H. D. Schell

1016. ŢÎRLEA P., ANGHELESCU M., PAQUÉ E. şi GAJA A., *Valoarea vitaminoterapiei în lumina experienţei clinicii de dermato-venerologie din Timişoara.* Dermatovener., 1960, V, *5*, 433—436.

Autorii expun pe scurt eficienţa unor vitamine cît şi rezultatele negative pe care le-au observat în cursul vitaminoterapiei la dermatoze. Se propune aplicarea unui discernãmînt în indicaţiile vitaminoterapiei pe bază ştiinţifică.

H. D. Schell

1017. NICOLAU ST. GH. şi ALTERAŞ I., *Consideraţii asupra a 60 de cazuri de onicoze cu* Candida *tratate cu micostatine.* Dermatovener., 1960, V, *6*, 487—492.

Se expun rezultatele favorabile obţinute cu antibioticul micostatin sub formă de pomadă în tratamentul onicozelor de tip onixis şi perionixis.

H. D. Schell

1018. CĂPUŞAN I., SLEAM C., POP O., LAZĂR A. şi STERN A., Pityriasis rubra pilaris *tratat cu vitamina A.* Dermatovener, 1960, V, *6*, 523—525.

Se arată efectul favorabil obţinut la trei pacienţi cu pityriasis rubra pilaris prin administrare de vitamină A.

H. D. Schell

1019. OCHIULEŢ I., *Corticoterapia în sifilisul serorezistent.* Dermatovener., 1960, V. *6*, 545—548.

Prin asocierea penicilinei cu cortizon (6.000.000—8.000.000 U penicilină și 500 mg cortizon în 8—10 zile) în tratamentul sifilisului serorezistent, autorul a obținut o negativare rapidă la 5 din 8 cazuri.

H. D. Schell

1020. BENKOVICI I. L., *Lichidul cefalorahidian la copiii cu meningită tuberculoasă tratați cu streptomicină.* Ftiziol., 1960, **IX**, *6*, 505—507.

Tratamentul precoce determină o modificare mai puțin pronunțată a compoziției în albumine și celule din l.c.r. Sub influența tratamentului glucoza și clorurile revin la normal, calciul rămîne întrucîtva scăzut sau la limita inferioară a normalului, în timp ce potasiul rămîne crescut. Normalizarea l.c.r. are loc mult după vindecarea clinică. Îmbunătățirea stării bolnavilor este însoțită de o considerabilă creștere a acidului ascorbic în l.c.r.

D. Moțet-Grigoraș

1021. BĂICOIANU S., ZELICOVICI Z., KERCEA V., ALGEORGE G. și ARHIRI M., *Cercetarea hidrazidemiei active la bolnavul tuberculos. Tipul metabolic și rolul ingestiilor lichidiene.* Ftiziol., 1960, **IX**, *6*, 517—524.

Se arată importanța testelor pentru determinarea la fiecare bolnav a dozei celei mai eficace și totodată netoxice. Cu doza de 5 mg/kg corp de HIN, numai 40—50% din bolnavi ating concentrația bacteriostatică de 0,75 γ/ml .Cu 10 mg /kg corp se realizează o hidrazemie activă la toți bolnavii. Asocierea cu PAS crește hidrazemia dar mai puțin decît dublarea dozei de la 5 mg la 10 mg/kg corp. 300—600 ml de apă nu au efect asupra hidrazemiei, dacă sînt ingerați simultan cu antibioticul, dar scad hidrazemia la 1/3 dacă sînt ingerați după două ore.

D. Moțet-Grigoraș

1022. GEORGESCU P., *Semnificația testelor de disproteinemie și a proteinogramei în tuberculoza pulmonară.* Ftiziol., 1960, **IX**, *6*, 543—546.

Proteinograma permite un diagnostic diferențial între afecțiunile pulmonare tuberculoase și cele netuberculoase numai în faza acută, nu și în cea cronică. Normalizarea proteinogramei, coroborată cu datele clinice, radiologice și bacteriologice, poate indica stabilizarea leziunilor, dar nu permite să se afirme vindecarea lor sigură. Testele de disproteinemie și proteinograma reflectă mai mult reacția generală a organismului decît caracterele leziunii locale. Ele arată consecința intoxicației organismului la nivelul celulelor țesutului hepatic și al sistemului reticulo-histocitar.

D. Moțet-Grigoraș

1023. PĂUNESCU E. şi BUZESCU M., *Test pentru controlul tratamentului ambulator cu hidrazidă.* Ftiziol., 1960, **IX**, *6*, 547—550.

Compuşii solubili de vanadiu dau în mediu puternic acid o reacţie specifică de culoare cu HIN. Această reacţie a fost folosită pentru un test de control simplu şi rapid în urină.

D. Moţet-Grigoraş

1024. PĂUNESCU E., *Modificări enzimatice ale macroorganismului în cursul proceselor tuberculoase.* Ftiziol., 1961, **X**, *1*, 47—54.

Sensul evoluţiei procesului tuberculos către fibrozare sau cronicizare este determinat de gradul leziunii celulare şi de reversibilitatea sau ireversibilitatea ei. Dacă activitatea enzimatică celulară antituberculoasă sau reparatorie creşte, evoluţia este favorabilă. Cînd aceste sisteme sînt blocate, evoluţia este nefavorabilă, activitatea enzimatică celulară fiind deviată către procese de autoliză.

D. Moţet-Grigoraş

1025. MOGA A., COFARU D., PITEA P. şi ARGINTARU D., *Asupra stării metabolismului lipidic în nevroze.* Med. int., 1960, **XII**, *4*, 525—527.

Se constată frecvente devieri de la normal ale lipemiei totale şi ale fracţiei β-lipoproteice, iar colesterolul este stabil. Autorii ajung la concluzia potenţialului aterogen al nevrozelor.

C. Şelariu

1026. DÓCZY P., SZIGETI I. şi MÓDY E., *Valoarea diagnostică a examinărilor biochimice în arteroscolerză.* Med. int., 1960, **XII**, *4*, 529—538.

Colesterolemia este mărită la 43,6% din cazuri, lipemia în 55,5%, β-lipoproteinemia în 60,3%. Se recomandă mare prudenţă la interpretarea datelor biochimice (deoarece alte boli latente ar putea să le modifice) şi confruntarea lor cu simptomele clinice.

C. Şelariu

1027. MINCU I. şi GURBAN C., *Clearance hepatic cu bromsulfonftaleină în afecţiunile hepatice. Nota III.* Med. int., 1960, **XII**, *6*, 889—899.

Autorii stabilesc caracteristicile curbei exponenţiale de eliminare a BSP la individul normal. Testul este extrem de sensibil chiar la leziuni difuze incipiente ale celulei hepatice şi prezintă diferenţe semnificative între normal şi patologic.

C. Şelariu

1028. TEITEL P., FOTINO M. şi NICOLAU C. T., *Pierderea filtrabilităţii eritrocitelor învelite cu anticorpi incompleţi.* Med. int., 1960, **XII**, *6*, 937—938.

Pierderea filtrabilităţii corespunde în linii generale cu cantitatea de anticorpi sensibilizanţi şi ar putea explica sechestrarea selectivă în splină a celulelor sensibilizate.

C. Şelariu

1029. KÖPPICH F., TUDOR R. şi BLANC G., *Consideraţii în legătură cu interpretarea probelor de disproteinemie şi a spectrului electroforetic în afecţiunile hepatice.* Med. int., 1960, **XII**, *8*, 1161—1168.

După cercetări proprii autorii recomandă diagrame biologice speciale pentru fiecare afecţiune hepatică (5 diagrame).

C. Şelariu

1030. NICOLAU I., GHIŢĂ N., RUSS V. şi BERCOVICI M., *Valoarea testelor clinice şi biologice în reumatismul Sokolski-Bouillaud la copil.* Med. int., 1960, **XII**, *9*, 1345—1350.

Dintre testele nespecifice autorii au urmărit : hemoleucograma, mielograma, V.S.H., modificările proteinelor plasmatice, electroforeză, fibrinogenemia, mucoproteinemia. Se recomandă ca teste concordante semnelor clinice : V.S.H., fibrinogenemia şi mucoproteinemia.

C. Şelariu

1031. BRAUNER R., SORU E., MINCU I., NEGOESCU V., HOANCĂ O. şi BUZELAN A., *Cercetări enzimologice în hepatite cronice şi ciroze hepatice.* Med. int., 1960, **XII**, *11*, 1629—1644.

Efectuîndu-se 9 teste enzimatice s-a găsit că transaminazele cresc, cu predominenţă GPT şi prezintă un raport GOT/GPT net scăzut, colinesteraza scade, fosfohexozoizomeraza creşte, aldolaza creşte moderat în hepatitele cronice şi este normală în ciroze, fosfataza alcalină creşte la jumătate din cazurile de hepatită cronică şi la o treime din ciroze, iar fosfataza acidă creşte la o treime din hepatite şi la mai mult de jumătate din ciroze. Controlul biopsic constată paralelism între alterarea morfologică şi modificările enzimatice.

C. Şelariu

1032. MIHĂILESCU V. V., *Aspecte biochimice fundamentale ale fiziopatologiei miocardului.* Med. int., 1960, **XII**, *11*, 1743—1747.

Punere la punct actualizată a cunoştinţelor despre metabolismul miocardului, privit din punct de vedere biochimic.

C. Şelariu

1033. BRUDA P., BERARIU T., SIMPLĂCEANU L., GOŞA C., CHIOREANU V. şi CĂPÎLNA S., *Contribuţii la studiul tulburărilor de metabolism în litiaza urinară.* Med. int., 1960, **XII**, *12*, 1795—1804.

Autorii pornesc de la ipoteza acad. A. Moga asupra rolului jucat de factorii bacteriologici şi imunobiologici în geneza litiazei urinare, analogă cu bolile colagene şi fac pe 60 de cazuri o serie de determinări ca : depistarea streptococului hemolitic din secreţia faringiană, titrul ASLO din sînge, V.S.H., electroforeza proteinelor şi glicoproteinelor din sînge, găsind modificări imunobiologice ce demonstrează tulburări generale profunde ce preced formarea calculului.

C. Şelariu

1034. BRUDA P., BERARIU T., GRÜN I., GOŞEA C., HOINĂRESCU E., CHIOREAN V. şi GĂVRUŞ A., *Contribuţii la studiul tulburărilor de metabolism în litiaza urinară. Partea II*, Med. int., 1961, **XIII**, *1*, 71—84.

Pentru determinarea metabolismului mineral s-au dozat în sînge şi urină ionii de Ca, Mg, P şi s-a făcut examenul chimic al calculului. S-a mai urmărit pe urină : tensiunea superficială, electroforeza glicoproteinelor şi mucopolizaharidele ; s-au făcut şi examinări microhistochimice pentru substanţa fundamentală din rinichi. Concluzia autorilor este că litiaza urinară este o boală generală ce se manifestă întîi prin tulburări umorale şi de metabolism şi ulterior prin apariţia calculului.

C. Şelariu

1035. IONESCU M. GH. şi POPESCU R. E., *Proteinograma serului în leucemii.* Med. int., 1961, **XIII**, *1*, 87—94.

S-au studiat modificările electroforetice în cursul evoluţiei leucemiilor : limfatică cronică, mieloidă şi acută. S-a constatat scăderea β-globulinei la prima, modificări fără importanţă în a doua şi scăderea albuminei în ultima. Încercările repetate în cursul evoluţiei indică stadiul bolii, în puseuri şi stadii preterminale observîndu-se scăderea marcată a albuminelor şi creşterea fracţiilor α_2 şi γ.

C. Şelariu

1036. PĂUNESCU-PODEANU A., GEORGESCU I. şi DINU I., *Metabolismul acidului oxalic şi tulburările lui. Date sumare privind fiziopatologia, clinica şi terapeutica lor după cercetări proprii.* Med. int., 1961, XIII, *2*, 169—178.

Concluziile sînt următoarele: acidul oxalic se găseşte în sînge atît salifiat cît şi legat de proteine; oxaluria indică o oxalemie crescută la maladii cronice ca hepatită, colită, reumatism cît şi la nevritici, oxalemia crescută indică o insuficienţă hepatică chiar minoră sau un dismetabolism muscular şi poate da o patologie clinică care este tratată cu o terapie adecvată: extract hepatic, insulină, vitamina B_1, ATP, extracte cortico-suprarenale.

C. Şelariu

1037. MITROIU O., PREDOVICI F. şi POPA M., *Valoarea testului aldolazei serice în diagnosticul hepatitelor epidemice.* Microbiol., parazitol., 1960, *2*, 149—154.

Deşi nespecific, efectuat în perioada de debut şi de ascendenţă a hepatitei epidemice, testul aldolazei are o valoare diagnostică importantă; valori peste 40 u au coincis în 98% din cazuri cu diagnosticul de hepatită. Testul are aceeaşi valoare şi în absenţa sau prezenţa icterului.

D. Tănăsescu

1038. BUŞILĂ V. T., DRAGOMIRESCU M., POPIAN R. şi PLĂCINTĂ A., *Studiul corelativ între eliminarea 17-cetosteroizilor, evoluţia fiziologică şi evoluţia clinică în hepatitele epidemice.* Microbiol., parazitol., 1960, *3*, 235—251.

Se atribuie eliminării 17-cetosteroizilor valoarea unui test de insuficienţă hepatică, eliminarea lor ilustrînd forma clinică la 26 din 27 cazuri (96%). Probele de disproteinemie au fost concordante cu gravitatea bolii în 19 cazuri din 27 (70%), iar a bilirubinemiei în 14 din 27 (51%), ceea ce arată insuficienţa aprecierii stării bolii numai prin cercetarea bilirubinemiei şi a probelor de disproteinemie.

D. Tănăsescu

1039. VOICULESCU V., CHIVU V. şi CONDEESCU-DRĂGHICI L., *Coma hipoglicemică prin ingestie de alcool.* Neurol. psih., 1960, V, *4*, 343—346.

Coma hipoglicemică se instalează în urma unei ingestii masive de alcool, citeodată sub influenţa unui efort fizic important. Coma cedează rapid la injecţiile intravenoase de glucoză. Se presupune că efectul hipoglicemiant este datorit acetaldehidei care rezultă din oxidarea alcoolului de către o dehidrogenază hepatică.

N. Luţă-Moldoveanu

1040. DONOVAN G. şi STĂNCESCU I., *Analiza prin electroforeză pe hîrtie a lipoproteidelor serului la sugar.* Pediatria, 1961, **X**, *2*, 97—104.

S-au stabilit, în condiţiile de lucru ale autorilor, următoarele valori normale ale lipoproteidelor serice : fracţia A-α_1 20,97% (în tampon cu $\mu = 0{,}06$) şi 15,17% ($\mu = 0{,}1$), fracţia 44,85% şi fracţia γ 34,18%. La fracţiile β şi γ valorile nu diferă semnificativ în funcţie de puterea ionică.

S. Mihăescu

1041. JUVARA A. M., *Proteinograma serului în cîteva cazuri de giardioză simplă şi asociată.* Pediatria, 1961, **IX**, *3*, 197—200.

Se constată la copii, scăderea albuminelor cu 2,7 şi 3,4%, creşterea fracţiei α_2 cu 31 şi 18,7% şi a fracţiei γ cu 17 şi 14%. Celelalte fracţii rămîn normale.

S. Mihăescu

1042. DONOVAN G. şi STĂNCESCU I., *Fracţiunile glucoproteidelor serice la sugarul normal.* Pediatria, 1961, **IX**, *4*, 309—317.

Comparativ cu valorile la adult, la sugar s-a găsit fracţia glucoproteidică albuminică crescută şi fracţia β scăzută. În afecţiuni cu caracter infecţios şi inflamator apar modificări persistente şi după stingerea procesului, în fracţiile glucoproteidice α_1, γ şi albumină.

S. Mihăescu

1043. BĂRBUŢĂ R., ŞERBAN FL., STULEANU A. şi HAIMOVICI M., *Apa extracelulară în dispepsia gravă a sugarului.* Pediatria 1961, **IX**, *4*, 327—330.

Valorile normale găsite pentru volumul apei extracelulare duc pe autori la supoziţia că deshidratarea în dispepsia gravă s-ar face mai ales pe seama apei intracelulare.

S. Mihăescu

1044. GHIMICESCU GH., BEJAN V., STROE C. şi POPOVICI L., *Modificări biofizice sub acţiunea tratamentului balnear de la Govora, la bolnavii cu artroză şi neuromialgii.* Rev. medico-chirurgic., Iaşi, 1960, **LXIV**, *2*, 399—404.

La 21 bolnavi s-a determinat în sînge vîscozitatea şi indicele de refracţie cu deducerea proteinelor totale, iar în urină crioscopia, concentraţia osmotică, presiunea osmotică, rezisti-

vitatea electrică, constatîndu-se unele modificări în urma tratamentului balnear. Astfel punctul crioscopic, determinat la sfîrşitul tratamentului, variază în raport cu valoarea natremiei sau clorului plasmatic. În concordanţă cu coborîrea punctului de congelare al urinei s-a înregistrat modificarea presiunii osmotice şi conductivităţii electrice. Se constată în urma tratamentului o creştere a viscozităţii în 85% din cazuri şi o coborîre a punctului de congelare în 75% din cazuri.

A. Batcu

1045. STRAT C., RUSU G., MARDARE G., DRĂGAN M., LUNGU I. şi POPESCU N., *Valoarea transaminazei serice ca test funcţional hepatic.* Rev. medico-chirurgic., Iaşi, 1960, **LXIV**, *3*, 575—582.

Cercetările făcute pe 30 bolnavi hepatici au arătat un paralelism între creşterea activităţii transaminazice şi aldolazice în hepatita epidemică şi, cîteodată, în icterele mecanice prin neoplasm de cap de pancreas. În hepatita epidemică, ciroza atrofică, icter mecanic cu alterarea parenchimului hepatic, există o concordanţă între creşterea activităţii transaminazice şi gradul de alterare a testelor de disproteinemie. Nu există concordanţă cu fosfataza alcalină decît în icterul mecanic, prin neoplasm de cap de pancreas, cu leziuni hepatice. Deşi lipsită de specificitate, valoarea transaminazei serice constituie un test funcţional sensibil, de o mare valoare prognostică.

A. Batcu

1046. MĂRCULESCU T., CHIPAIL A., DRĂGAN S., SCUMPU G. şi CAZIL F., *Un aspect particular de disfuncţie tubulară în evoluţia glomerulonefritei acute difuze streptococice.* Rev. medico-chirurgic., Iaşi, 1960, **LXIV**, *3*, 589—594.

În glomerulonefrita acută difuză, alcaloza renală (cîştigată sau congenitală) poate fi, în caz de regim desodat prelungit, originea unui tablou umoral complex, constînd din hiperpotasiurie, hipopotasemie, hipocloremie şi scăderea clearence-lui glomerular. Starea se corectează prin repunerea bolnavului la regim sodat normal.

A. Batcu

1047. GHIMICESCU GH., MUSTEAŢĂ C. şi KAPRI A., *Modificări biochimice sub acţiunea tratamentului balnear de la Govora la bolnavii cu artroză şi neuromialgii.* Rev. medico-chirurgic., Iaşi, 1960, **LXIV**, *3*, 673—680.

Autorii constată înainte de tratament o scădere a sulfaţilor, magneziului şi a raportului K/Ca la majoritatea cazurilor. Sub acţiunea tratamentului balnear se constată scăderea potasemiei, creşterea calcemiei şi calciuriei şi scăderea fosfatemiei la 50% din cazuri.

A. Batcu

1048. BATCU A. şi BUSUIOC A., *Contribuţii la studiul formelor de fosfor din sînge.* Rev. medico-chirurgic., Iaşi, 1960, **LXIV**, *3*, 703—707.

Urmărindu-se modificările formelor sub care compuşii fosforaţi ai hematiilor se găsesc în timpul conservării sîngelui, s-a constatat că în decurs de 15 zile la +5°C se petrec aceleaşi modificări ca şi atunci cînd hematiile sînt ţinute timp de 24 ore la +38°C. În ambele cazuri se constată creşterea fosforului anorganic, pe seama fosforului uşor hidrolizabil, şi a fosforului acidului fosfopiruvic, în timp ce fosforul proteic şi lipidic rămîne nemodificat.

A. Batcu

1049. BALMUŞ P. şi colab., *Acţiunea balneoterapiei carbo-gazoase (Vatra Dornei) asupra modificărilor umorale din boala hipertonică.* Rev. medico-chirurgic., Iaşi, 1960, **LXIV**, *4*, 831—836.

Disproteinemia se constată la bolnavii în stadiul II, faza A şi B, manifestată prin scăderea albuminelor şi creşterea β-globulinelor. Raportul fosfolipide/colesterol este scăzut înainte de tratament, pentru a varia în limite normale după tratament. Potasemia, scăzută înainte, creşte în urma tratamentului; invers natremia.

A. Batcu

1050. ENESCU A. L., *Studiul variaţiilor acetilcolinesterazei în anumite stări patologice.* Rev. medico-chirurgic., Iaşi, 1960, **LXIV**, *4*, 907—912.

Printr-o metodă electrică originală, autorul a constatat scăderea activităţii acetilcolinesterazice a serului şi hematiilor în afecţiunile hepato-biliare. Scăderea este în raport cu gravitatea bolii. Valorile cele mai scăzute au fost găsite în ciroza atrofică şi icterul toxic.

A. Batcu

1051. NICOLESCU Z., BOREL M., TIMOFTE V. şi CORDESCU M., *Diagnosticul precoce de sarcină prin reacţia chimică Misischia.* Viaţa med., 1960, **VII**, *8*, 665—672.

Se face un studiu amănunţit asupra acestei metode, comparativ cu reacţia Galli-Mainini, ajungîndu-se la concluzia că reacţia Misischia prezintă avantajul unei mai mari precizii şi simplităţi şi este aplicabilă şi în laboratoarele cele mai mici.

D. Moţet-Grigoraş

1052. BUŞILĂ V. T. şi MAAGER P., *Valoarea reacţiei Jirgl în evidenţierea diagnostică a icterelor obstructive.* Viaţa med., 1960, **VII**, *12*, 883—889.

Pe baza datelor de laborator, autorii fac o apreciere critică asupra acestei metode ajungînd la concluzia că ea poate completa o supoziţie diagnostică, dar numai în concordanţă cu alte date de laborator şi clinice.

D. Moţet-Grigoraş

1053. DRAGOMIRESCU M. şi MAAGER P., *Valoarea fosfatazemiei alcaline în diagnosticul formei clinice colostatice de hepatită.* Viaţa med., 1960, **VII**, *15*, 1059—1062.

Fosfatazemia nu dă indicaţii asupra intensităţii sindromului icteric şi nici nu variază în paralel cu alte probe de laborator ca bilirubinemia directă, precipitarea cu fenol sau colesterolemia. În hepatitele colostatice fosfatazemia alcalină variază în limite mult mai largi, decît în icterele mecanice extrahepatice.

D. Moţet-Grigoraş

1054. ENACHE L., *Siliciul în organismul uman.* Viaţa med., 1960, **VII**, *17*, 1183—1186.

Se discută rolul plastic şi funcţional al acestui element în organismul normal şi patologic precum şi utilizarea lui în terapeutică.

D. Moţet-Grigoraş

1055. TIEGERMAN T., AVRAM M., KARASSI A., MOGOS G., NICOLAU V. şi COSMULESCU I., *Valoarea clinică a sedimentului urinar în afecţiunile hepatice cronice.* Viaţa med., 1960, **VII**, *18*, 1215—1220.

Un lot de bolnavi cu hepatite cronice, dintre care o parte cu ciroză, s-a cercetat prin metoda sedimentului urinar cantitativ minutat. S-a constatat posibilitatea depistării proceselor pielo-nefritice latente. Datele din literatură asupra hematuriei în ciroză nu au fost confirmate, hematuria considerîndu-se ca o manifestare a cointeresării renale.

D. Moţet-Grigoraş

1056. GHEORGHESCU B., BRASLĂ I. şi MERCULIEV EL., *Diagnosticul cu radioizotopi în medicina internă.* Viaţa med., 1961, **VIII**, *1*, 39—49.

Se expun metodele de investigare cu radioizotopi, a digestiei şi absorţiei, a volumului sangvin, a metabolismului şi duratei de viaţă a hematiilor, a metabolismului proteic, a absor

ţiei şi metabolismului vitaminei B_{12}, a clearance-ului hepatic, a activităţii glandei tiroide, a timpului de circulaţie precum şi a hepatogramei şi nefrogramei.

D. Moţet-Grigoraş

1057. GORIZONTOV P.D., *Baza fiziopatologică a terapiei corticosteroide.* An. rom.-sov. med. gen., 1960, *6*, 52–62.

După expunerea acţiunii fiziologice şi biochimismului hormonilor corticosteroizi şi după descrierea preparatelor hormonale, se dau indicaţii asupra folosirii acestor hormoni în diferite maladii. Totodată, se arată contraindicaţiile şi complicaţiile posibile care impun precauţii în terapia corticosteroidă.

D. Moţet-Grigoraş

1058. OIVIN I.A., *Patogenia şi clasificarea disproteinemiilor.* An. rom-sov. med., 1961, *1*, 29–42.

Se expun modificările suferite de proteinele sangvine în diverse cazuri patologice şi se prezintă o clasificare schematică originală a disproteinemiilor. Manifestarea cea mai caracteristică a disproteinemiei constă în hipoalbuminemie. Raportul albumine/globuline se modifică patologic numai în sensul scăderii lui. În general disproteinemiile apar datorită tulburării biosintezei albuminei, pierderii selective de proteine, tulburării sintezei de proteine protectoare, sintezei compensatorii de globuline în caz de hipoalbuminemie. Sînt rare cazurile în care disproteinemiile se datoresc unei sinteze de globuline anormale sau unor tulburări ale sintezei diferitelor fracţiuni proteice. Dacă mecanismele de sinteză a proteinelor nu sînt perturbate, echilibrul se restabileşte relativ uşor.

D. Moţet-Grigoraş

1059. FOMINA L. G., *Tratamentul ateriosclerozei coronariene cu testosteron asociat cu vitamina* B_{12}. An. rom.-sov. med., 1961, *1*, 102–105.

Autorul recomandă acest tratament la bolnavii de ateroscleroză coronariană, obţinîndu-se modificări favorabile în metabolismul lipidelor, scăzînd nivelul colesterolemiei (la 2/3 din bolnavi) şi crescînd raportul lecitină-colesterol (la 50% din bolnavi). Un efect clinic pozitiv s-a obţinut la 2/3 din bolnavi, folosindu-se exclusiv acest tratament.

D. Moţet-Grigoraş

1060. POLEANŢEVA L. R., *Utilizarea ACTH-ului şi hormonilor steroizi în nefrite.* An. rom.-sov. med., 1961, *1*, 106–116.

Prin cercetarea evoluţiei stării clinice, a greutăţii corporale, a proteinuriei, proteinemiei, colesterolemiei şi diurezei, se constată o ameliorare a stării bolnavului. Se recomandă tratamentul cu hormoni steroizi ca un tratament de elecţie.

D. Moţet-Grigoraş

1061. FURNICĂ GH. şi FURNICĂ M., *Date experimentale asupra mecanismului activoprotecţiei medicamentoase.* An. rom-sov. chim., 1961, *2*, 45—78.

După o amplă discuţie asupra mecanismului biochimic al acţiunii radiaţiilor ca şi a substanţelor activoprotectoare, autorii prezintă numeroase rezultate obţinute la Institutul Oncologic al Academiei R.P.R., în legătură cu modificările consumului de oxigen, variaţia conţinutului de acizi nucleici, activitatea colinesterazei, repartiţia compuşilor protectori în organism precum şi cu efectul de radioprotecţie medicamentoasă.

D. Moţet-Grigoraş

XI. BIOCHIMIA NUTRIŢIEI

1062. GHEORGHE V., *Rolul histaminei în intoxicaţiile alimentare.* Probl. zoot. vet., 1962, *1*, 66—71.
Referat general cu 16 indicaţii bibliografice.

H. Filipescu

XII. BIOCHIMIE TEHNICĂ

1063. ALBOIU M., NEGRUŢIU T., BÎRNAURE GH. şi IONESCU E.V., *Desicarea, metodă superioară de conservare a produselor biologice de uz veterinar.* Probl. zoot. vet., 1961, *1*, 66—69.

Scurtă prezentare a tehnicii proceselor de liofilizare şi „atomizare", a modificărilor de ordin fizic, chimic şi biologic ale materialelor liofilizate şi atomizate, a avantajelor şi domeniilor de aplicare ale acestor procese precum şi a rezultatelor obţinute de Institutul Pasteur din Bucureşti în această direcţie.

H. Filipescu

1064. GHERCIUK M. P., *Antioxidanţii în industria alimentară.* An. rom.-sov. chim.,1961, *1*, 159—174.

Se discută utilizarea unor antioxidanţi în vederea protecţiei grăsimilor alimentare împotriva alterării oxidative.

D. Moţet-Grigoraş

XIII. FARMACOLOGIE. TOXICOLOGIE

1065. IOANID N., BORŞ GH. şi ARMĂŞESCU L., *Contribuţii la studiul otrăvirilor accidentale cu fructe de Atropa belladona L. (Dozarea polarografică a alcaloizilor totali).* Farmacia, 1960, *4*, 305—308.

Folosind metoda polarografică, se urmăresc alcaloizii totali din ficat, stomac, intestin, precum şi în seminţele nedigerate într-un caz de otrăvire accidentală cu Atropa belladona L. Autorii recomandă metoda polarografică în cercetările chimico-judiciare pentru dozarea atropinei în viscere.

S. Vasu

1066. SZABO ST., DEZSI Z., GYERGYAY FR., CHARAP GH., VASS E. şi ANTALFFI A., *Glicemia în silicoză.* Rev. medico-chirurgic., Iaşi, 1960, **LXIV**, *4*, 901—906.

În silicoza de gradul I şi II curba glicemiei provocate arată mari variaţii individuale, ceea ce indică labilitatea mecanismelor glicoregulatoare. În silicoza de gradul III, precum şi la animalele supuse acţiunii cronice a prafului de bioxid de siliciu, se constată o tendinţă la hiperglicemie.

A. Batcu

ŞEDINŢELE CERCULUI DE BIOCHIMIE GENERALĂ ŞI APLICATĂ AL INSTITUTULUI DE BIOCHIMIE AL ACADEMIEI R.P.R. ŞI CATEDREI DE BIOCHIMIE DE LA UNIVERSITATEA „C. I. PARHON"

În ziua de 8 iunie 1961 a avut loc la Institutul de biochimie şedinţa prezidată de prof. H. Sluşanschi, cu următoarea ordine de zi:

1. M. Ionescu, M. Săulescu, M. Ivănescu şi M. Bîrsan (Institutul agronomic „Nicolae Bălcescu"): *Unele caractere biochimice ale porumbului şistăvit.* Lucrarea se publică în numărul de faţă al revistei.
2. E. Macovschi, C. Iordache şi C. Dragomirescu, (Institutul de biochimie al Academiei R.P.R.): *Fosfagenul în diferite stări de excitabilitate şi activitate musculară.*
   Lucrarea s-a publicat în nr. 2 din 1961 al revistei.

ŞEDINŢELE CERCULUI DE BIOCHIMIE MEDICALĂ AL SOCIETĂŢII ŞTIINŢELOR MEDICALE ŞI INSTITUTULUI DE BIOCHIMIE AL ACADEMIEI R.P.R.

În ziua de 31 mai 1961 a avut loc în amfiteatrul spitalului Colţea şedinţa prezidată de acad. prof. dr. E. Macovschi, cu următoarea ordine de zi:

1. C. Velican (Institutul de medicină internă al Academiei R.P.R.):
   Substanţa fundamentală a ţesutului conjunctiv şi problema permeabilităţii tisulare.
1. C. Mihăescu, (Institutul de medicină internă):
   Glicoproteine serice.
3. D. Moţet-Grigoraş (Institutul de biochimie):
   Coacervabilitatea proteinelor din serul sangvin uman.

EMANOIL RIEGLER

(1854—1929)

Emanoil Riegler s-a născut în anul 1854, în satul Grozești-Bacău. Urmează școala primară la Tîrgul-Neamț iar liceul la Iași. Studiile universitare le face sub conducerea savantului Ernst Ludwig, la Viena, unde în 1881, luna martie, obține diploma „cum laude" de doctor în medicină, chirurgie și chimie medicală.

Întors în țară, în octombrie 1881, este numit profesor la catedra de chimie de la Facultatea de medicină din Iași, pe care o conduce pînă în anul 1906, cînd trece profesor de terapeutică la aceeași Facultate, pînă în anul 1926, cînd este pensionat.

În anul 1901 E. Riegler este ales vicepreședinte al Societății de științe din București și în 1903 vicepreședinte al Societății de medici și naturaliști din Iași. Pentru meritele sale științifice este ales în 1904 membru corespondent al Academiei Romîne.

E. Riegler a avut o intensă activitate didactică, ştiinţifică şi educativă. Întreaga sa viaţă constituie un exemplu de muncă pusă în slujba sănătăţii. Cuvintele sale, rostite cu ocazia lecţiei de adio, cînd a fost pensionat, pot constitui un îndreptar în muncă : „Aproape 46 de ani i-am închinat în adevăr îngrijirii bolnavilor, educaţiei studenţilor şi cercetărilor de laborator, săvîrşind muncă trudnică numai pentru binele omenirii singurul scop în vederea căruia mi-am sacrificat întreaga mea viaţă, preţuind mulţumirea izvorîtă din ocupaţiile ştiinţifice, mai presus de orice plăcere omenească" ... „Astăzi cînd mă văd biruit de greutatea anilor şi a suferinţelor, cînd limita de vîrstă mă obligă să înfăşor pentru totdeauna steagul activităţii mele didactico-universitare, mă retrag, dorindu-vă vouă, dragii mei colegi, spor la muncă în chemarea voastră de apărători al celui mai mare bun omenesc : *sănătatea*, iar elevilor mei, pe care i-am iubit întotdeauna, cu nespusă durere părăsindu-i le doresc : *nestrămutată dragoste de ştiinţă şi de oameni*"*).

Medic chimist, E. Riegler a ştiut să împletească munca de laborator cu cea de la patul bolnavului.

În introducerea la manualul *Terapeutica bolilor interne*, apărut în anul 1913, el arată dificultăţile care au trebuit să fie învinse pentru realizarea acestui adevăr : „Am insistat mult asupra examinării funcţionale a diferitelor organe, fiind convins că, cu ajutorul acestor investigaţii, putem recunoaşte de multe ori stări patologice, care, cu ajutorul mijloacelor pur chimice, rămîn mult timp ascunse medicului. Terapeutica fiind o ştiinţă chimică şi experimentală, este evident că studiul ei trebuie să se facă atît în spital cît şi în laborator, căci altfel acest curs nu ar fi de nici un folos studenţilor".

„Cu multe dificultăţi — spune E. Riegler — am ajuns la realizarea acestei necesităţi ... Sînt fericit că în urma multor lupte am ajuns la idealul pentru care am luptat foarte mult, şi anume ca cursul de terapeutică să se facă atît în spital cît şi în laborator".

Din punct de vedere didactic, acestea se materializează în cele două manuale publicate primul în 1904, *Chimia, fiziologia şi patologia urinii umane* iar al doilea în 1913, *Terapeutica bolilor interne*. Manualul din 1904 este primul de acest fel de la noi din ţară. În cele 350 de pagini pe care la conţine manualul sînt cuprinse datele teoretice şi practice ale componenţilor urinari normali şi patologici. În acest manual găsim o serie întreagă de metode pe care E. Riegler le-a imaginat şi le-a pus în serviciul laboratorului de biochimie clinică pentru îngrijirea bolnavilor, metode care sînt şi astăzi unanim recunoscute. Trebuie să menţionăm că metoda biuretului pentru dozarea proteinelor este a lui E. Riegler. Această metodă o găsim şi astăzi citată în *Fiches Techniques* a prof. P. Fleury iar diferitele variante ale acestei metode le găsim în toate manualele de laborator.

Cu cunoştinţe temeinice de chimie, E. Riegler a ştiut să aplice chimia în medicină. În manualul de terapeutică se vede bine legătura pe care el o stabileşte între medicină şi chimie : „Acţiunea farmacologică a unui medicament depinde de structura moleculară", afirmaţie, care în lumina realizărilor ştiinţifice de azi, nu mai are nevoie de nici o completare.

Un alt domeniu al biochimiei pe care E. Riegler îl abordează este cel al studiului şi importanţei ionilor în terapeutică, căruia îi consacră un capitol în manualul său de terapeutică.

E. Riegler a îmbogăţit arsenalul laboratorului de biochimie cu o mulţime de metode şi procedee ce-şi păstrează şi astăzi valabilitatea. Iată unele din metodele sale originale, aplicate la analiza urinei :

— metoda pentru recunoaşterea acetonei în urină ;
— metoda gazometrică de dozare a acetonei ;
— metoda pentru dozarea acidului azotos ;

*) N. Leon, *Amintiri*, III, Iaşi, 1927.

— procedeu gazometric și gravimetric pentru dozarea amoniacului în urma kjeldahlizării;

— reacția calitativă cu acid fosfomolibdic pentru recunoașterea acidului uric în calculi;

— metoda gazogenă de dozare a acidului uric;

— reacția calitativă pentru recunoașterea acidului acetil-acetic;

— metoda gravimetrică de dozare a fenolului;

— reacția calitativă pentru prezența indicanului în urină;

— reacția calitativă pentru recunoașterea bilirubinei în urină;

— reacție pentru recunoașterea substanțelor colorate ale sîngelui;

— reacții calitative pentru recunoașterea albumozelor;

— reacții calitative pentru determinarea albuminei în urină;

— metodă pentru dozarea albuminei în urină;

— adaptarea reacției cu fenilhidrazină la identificarea glucozei în urină;

— prima metodă iodometrică de dozare a glucozei cu soluție Fehling (1895);

— cele dintîi metode pentru dozarea gazometrică a glucozei cu soluție Fehling (1901), cu permanganat de potasiu (1904);

— metoda gazometrică pentru dozarea clorurilor în urină;

— metoda gazometrică pentru dozarea sulfaților în urină;

— metoda gravimetrică pentru dozarea fosfaților în urină;

— reacția pentru recunoașterea sărurilor de amoniu și amoniacului liber în urină;

— metoda de dozare a amoniacului în urină;

— metoda gazometrică pentru dozarea calciului în urină;

— reacția pentru recunoașterea iodului în urină;

— reactiv acid fosfotungstic-acid clorhidric, preparat de E. Merk-Darmstadt după E. Riegler, pentru îndepărtarea diferitelor substanțe azotate din urină în scopul dozării ureei.

Aceste metode sînt descrise de E. Riegler în manualul său despre analiza urinei.

Viața și munca sa, pregătirea sa profesională, de desăvîrșit medic și chimist, trebuie să fie exemplu demn de urmat.

A. *Batcu.*

Institutul medico-farmaceutic,
Catedra de chimie biologică, Iași

LISTA LUCRĂRILOR ȘTIINȚIFICE ALE LUI E. RIEGLER *)

1. *Eine leichte und rasch ausführbare Methode zur Bestimmung des Harnstoffs, beruhend auf der Zerlegung desselben durch Milon's Reagens*, Z. Analyt. Chem. (Fresenius), **33**, *1*, 49 (1894).
2. *Nachweis und Bestimmung von Eiweiss im Harn*, Z. Analyt. Chem., **34**, *1*, 485 (1895).
3. *Bestimmung des Alkohols und Extraktes im Weine auf optischem Wege*, Z. Analyt. Chem., **35**, *1*, 27 (1896).
4. *Methode zur Bestimmung der Harnsäure*, Z. Analyt. Chem., **35**, *1*, 31 (1896).
5. *Bestimmung des Zuckers*, Z. Analyt. Chem., **35**, *2*, 92 (1896).
6. *Neue Bestimmungsmethode der löslichen Jodverbindungen auf titrimetrischen Wege*, Z. Analyt. Chem., **35**, *5*, 305 (1896).
7. *Titerstellung der Thiosulfatlösung mittels Jodsäure*, Z. Analyt. Chem., **35**, *5*, 308, (1895).
8. *Wertbestimmung u. Titerstellung von Chamäleonlösung*, Z. Analyt. Chem., **35**, *5*, 308 (1896).

*) Așa cum este prezentată în articolul acad. dr. I. Enescu.

9. *Eine empfindliche, einfache Reaktion auf salpetrige Säure*, Z. Analyt. Chem., **35**, *12*, 677 (1896).
10. *Bestimmung von Eiweiss im Harn*, Z. Analyt. Chem., **36**, *2*, 70 (1897).
11. *Bestimmung des Zuckers in thierischen Flüssigkeiten*, Z. Analyt. Chem., **36**, *5*, 280 (1897).
12. *Colorimetrische Bestimmung kleiner Mengen von salpetriger Säure*, Z. Analyt. Chem., **36**, *5*, 306 (1897).
13. *Über eine sehr empfindliche Reaktion auf Nitrile, wie auch über die quantitative Bestimmung derselben auf colorimetrischem Wege*, Z. Analyt. Chem., **36**, 377 (1897).
14. *Bestimmung der Harnsäure*, Z. Analyt. Chem., **36**, 546 (1897).
15. *Eine neue gasvolumetrische Bestimmung der salpetrigen Säure wie auch anderer durch Wasserstoffsuperoxyd oxydierbarer Körper*, Z. Analyt. Chem., **36**, 665 (1897).
16. *Ein neues titrimetrisches Verfahren zur Bestimmung des Traubenzuckers, des Milchzuckers, sowie auch anderer Fehling'sche Lösung reduzierender Körper*, Z. Analyt. Chem., **37**, 22 (1898).
17. *Bestimmung des Harnstoffs*, Z. Analyt. Chem., **37**, 135 (1898).
18. *Bestimmung der Harnsäure*, Z. Analyt. Chem., **37**, 138 (1898).
19. *Entgegnung auf K. B. Lehman's Bemerkungen zu meiner Abhandlung über ein neues Verfahren zur Bestimmung des Traubenzuckers*, Z. Analyt. Chem., **37**, 443 (1898).
20. *Reagens auf Alkaloide*, Z. Analyt. Chem., **37**, 726 (1898).
21. *Nachweis von Eiweiss und Albumosen in thierischen Flüssigkeiten*, Z. Analyt. Chem., **38**, 68 (1899).
22. *Neues Reagens auf Harnsäure*, Z. Analyt. Chem., **38**, 130 (1899).
23. *Titerstellung sowie Bestimmung kaustischer und kohlensaurer Alkalien*, Z. Analyt. Chem., **38**, 250 (1899).
24. *Gehaltsbestimmung der Phenole*, Z. Analyt. Chem., **39**, 591 (1900).
25. *Nachweis von Gallenpigmenten*, Z. Analyt. Chem., **39**, 735 (1900).
26. *Gasvolumetrische Bestimmung des Formaldehyds*, Z. Analyt. Chem., **40**, 92 (1901).
27. *Gasvolumetrische Bestimmung des Acetons*, Z. Analyt. Chem., **40**, 94 (1901).
28. *Nachweis freier Säuren und saurer Salze*, Z. Analyt. Chem., **40**, 170 (1901).
29. *Zuckernachweis mit der Phenylhydrasinprobe*, Z Analyt. Chem., **40**, 564 (1901).
30. *Gasvolumetrische Bestimmungsmethode des Zuckers*, Z. Analyt. Chem., **40**, 565 (1901).
31. *Gasvolumetrische Bestimmung der Chloride, der Chlorwasserstoffsäure, des Silbers und der Phosphate*, Z. Analyt. Chem., **40**, 633 (1901).
32. *Über das Verhalten des Saccharins zu den verschiedenen Enzymen*, Archiv. für experiment. Pathologie u. Pharmakologie Bot., **XXXV**, 306 (1901).
33. *Méthode nouvelle pour la recherche de la saccharine, de l'acide salicylique ou d'un mélange de ces deux corps*, Ann. scient. de l'Université de Jassy, 202 (1901).
34. *Eine gasvolumetrische Bestimmungsmethode der Sulfate, der Schwefelsäure, der Carbonate und der Kohlensäure*, Z. Analyt. Chem., **41**, 17 (1902).
35. *Eine gasometrische und gravimetrische Bestimmung der Phosphorsäure und der Magnesia nach der Molybdänmethode*, Z. Analyt. Chem., **41**, 675 (1902).
36. *Eine gasometrische Methode der Alkalimetrie*, Z. Analyt. Chem., **41**, 413 (1902).
37. *Eine neue Reaction im Harne von Diabetikern, welche Acetessigsäure ausscheiden*, Med. Blätter, *14* (1902).
38. *Eine neue gravimetrische Bestimmungsmethode der Phosphorsäure im Harne*, Bericht des V Internat. Kongresses für angewandte Chemie, Berlin, 1903.
39. *Eine allgemeine Reaktion auf Aldehyde*, Z. Analyt. Chem., **42**, 168 (1903).
40. *Ein gasometrische und gravimetrische Bestimmungsmethode des Ammoniaks*, Z. Analyt. Chem., **42**, 677 (1903).
41. *Gasometrische Bestimmungsmethode des Calciums, Baryums, Strontiums und Kaliums, eine gasometrische und gravimetrische Bestimmungsmethode des Kupfers*, Z. Analyt. Chem., **43**, 205 (1904).
42. *Gasometrische Bestimmung der Harnsäure und des Harnstoffs*, Zeitschr. f. Krankenpflege, **XXVI**, *6* (1904).
43. *Eine rasch ausführbare gasometrische Methode*, Wochenschrift, *5* (1904).
44. *Eine neues Reagens zum Nachweis der verschiedenen Blutfarbstoffe oder der Zersetzungsprodukte derselben*, Z. Analyt. Chem., **43**, 539 (1904).
45. *Ein interessanter Fall von Cystinurie und Cystinsteine*, Med. Blätter, *3* (1904).
46. *Ammonium Trijodat als Urtitersubstanz*, VI, Congresso internaz. di Chimica applicata, Roma, 1906.
47. *Neuere Reaktionen auf Acetessigsäure*, Münchener med. Wochenschrifft, *10* (1906).

48. *Eine neue Bestimmungsmethode der Jodide im Gegenwart von Bromiden und Chloriden*, Z. Analyt. Chem., **46**, 315 (1907).
49. *Eine kolorimetrische Bestimmungsmethode der Harnsäure*, Z. Analyt. Chem., **51**, 466 (1912).
50. *Catalazele sîngelui*, volumul jubiliar „Petru Poni", ed. Goldner, Iași, 1906.
51. *Guta, răspîndirea ei în populația noastră*, An. Academiei Romîne, **XXXIV**, *19* (1912).
52. *Chimia, fiziologia și patologia urinii umane*, Iași 1904.
53. *Terapeutica bolilor interne*, Inst. de arte grafice Ștefănescu, Iași, 1913.

APARATE

1. Neuer Apparat zur Harnstoffbestimmung nach Prof. Dr. E. Riegler, construit de Paul Altmann-Berlin.

2. Ein einfaches Albuminimeter nach Prof. Dr. E. Riegler, construit de Paul Altmann-Berlin.

3. Colorimetru pentru dozarea colorimetrică a acidului uric, construit de Hans Heele (Präzisionsoptik) Berlin.

F 1330

ACADEMIA REPUBLICII POPULARE ROMÎNE

INSTITUTUL DE BIOCHIMIE

STUDII ŞI CERCETĂRI DE BIOCHIMIE

Tomul IV 1961

INDEX ALFABETIC

	Nr.	Pag.
BATCU ALEX., Contribuţii la studiul acţiunii oxido-reducătoare a vitaminelor. Nota VII. Unele reacţii de oxido-reducere a vitaminelor E şi K	1	135
BATCU ALEX. şi BUSUIOC ASPAZIA, Influenţa vitaminelor asupra dinamicii compuşilor fosforaţi ai hematiilor	2	223
BÎRSAN E. T., CUPARENCU B., GĂVRUŞ AL. şi RUSU J., Studiul modificărilor unor compuşi fosforaţi în miocardul, muşchii scheletici şi plămînul şobolanilor suprarenalectomizaţi	1	79
BODEA C. şi BILAUS CORINA, Cercetări asupra unor caractere biochimice speciale ale porumbului. I. Despre conţinutul în glutation al boabelor de porumb	3	333
BODEA C., NICOARĂ E., BILAUS C. şi SALONTAI T., Asupra caracterelor biochimice ale fructelor unor hibrizi vegetativi de tomate	2	205
BURUIANĂ L. M., HADARAG EL., DEMA A. şi DEMA I., Acţiunea unui flux radiant complex asupra fosfomonoesterazei eritrocitare	4	463
BURUIANĂ L. M., PAVLU V., DEMA I., DIACONESCU C. şi DEMA A., Cercetări polarografice şi electroforetice privind efectul unui flux de neutroni asupra soluţiilor de proteine serice	4	473
COSTĂCHEL O., FURNICĂ M. şi TĂUTU P., Modificările acizilor nucleici din ţesuturi sub acţiunea dozelor mari de citostatice	1	69
DANKANITS ELISABETA, Contribuţii la caracterizarea soiurilor de căpşuni prin determinarea cromatografică a unor acizi organici şi glucide	3	381
FRUNZETI VIORICA, BOTOŞĂNEANU LILICA şi RĂDULESCU SANDA, Acţiunea dihidrofoliculinei şi testosteronei asupra catalazei foliare şi a consumului de oxigen la tulpinile de *Solanum lycopersicum* şi *Anthirrhinum majus*	3	357
FURNICĂ M. şi FURNICĂ G., Despre acţiunea anticolinesterazică a unor substanţe radioprotectoare	3	387
GEICULESCU V., CĂPÎLNĂ S., PINCIU I., DINCĂ A., LAZĂR T. şi GEICULESCU C., Modificările biochimice în boala astmatică în urma balneofizioterapiei Govora	1	129

	Nr.	Pag.
GHEŢIE VICTOR, Mărirea capacităţii de rezoluţie electroforetică a tamponului borat prin adăugarea ionului fosfat	3	397
GHEŢIE VICTOR şi BUZILĂ LUCIA, Proteinele de rezervă şi proteinele protoplasmatice din sămînţa de fasole (*Phaseolus vulgaris*)	2	241
GONŢEA IANCU, DUMITRACHE S. şi ŞUŢESCU PARASCHIVA, Nevoia de proteine a omului în muncă. IV. Mecanismul negativării bilanţului azotat sub influenţa efortului	2	211
GURBAN C. şi CRISTEA ELENA, Observaţii asupra citului de fosforilare în mitocondriile din ficatul de şobolan în sistemul oxidativ al succinatului	4	551
HULUŢĂ C., IORDACHE CORINA, SCHELL H. D., CONSTANTINESCU O., BENEA V., Răsărirea seminţelor şi metabolismul puieţilor de *Fraxinus excelsior L.*, rezultaţi din seminţe tratate su soluţii radioactive de ^{32}P	4	527
IONESCU M. V., SĂULESCU N. N., IVĂNESCU M. şi BÎRSAN M., Unele caractere biochimice ale porumbului şiştăvit	4	485
KIŢULESCU I., BĂLUŢĂ şi DINESCU G., Date biochimice privind rolul acetilfosfatului în activitatea sistemului nervos şi mecanismul sintezei sale	1	87
LUŢĂ-MOLDOVEANU NATALIA, Activitatea colinesterazei din creier în curarizare	3	371
MACOVSCHI EUGEN, Unele consideraţii cu privire la problema membranelor celulare şi a permeabilităţii lor	1	9
MACOVSCHI E. şi ARNET LIA, Relaţiile dintre amilaza, lipaza şi fosfataza alcalină din serul sangvin uman şi coacervatul obţinut din acest ser cu guma arabică	1	157
MACOVSCHI E., FRUNZETI V. şi BOTOŞĂNEANU L., Factorii fizico-chimici şi metabolici în transportul diferitelor soluţii în plante	4	423
MACOVSCHI EUGEN, IORDACHE CORINA şi DRAGOMIRESCU CORINA, Fosfagenul în diferite stări de activitate şi excitabilitate musculară	2	171
MANTA I., BEDELEANU D., MUREŞANU L. şi GORUN V., Biochimia ateromatozei. Nota I. Cercetări biochimice în ateromatoza experimentală	1	31
MANTA I., BEDELEANU D., LAZĂR T. C. şi MUREŞANU LETIŢIA, Biochimia ateromatozei. Nota II. Repartizarea ^{32}P în organele şi ţesuturile iepurilor ateromatoşi şi la cei trataţi cu hidrolizat de proteine (casamină)	1	45
MARCU C., STROESCU V. şi SCHWARTZ RITTA, Acţiunea imipraminei asupra activităţii glucozo-dehidrogenazei şi a citocromului c din omogenatul de creier de şobolan	4	499
MARX A., Analiza cromatografică pe răşini schimbătoare de ioni a aminoacizilor din α-anatoxina stafilococică purificată	4	537
MEZINCESCU M. D., SEREDIUC E. şi ROSEN P., Nivelul excreţiilor diurne de arginină şi de glicociamină	1	59
MEZINCESCU M. D., STRUGALI H., TUDOR M. şi PIRCU P., Repartiţia apei între compartimentele extra şi intracelular în muşchii roşii şi muşchii albi	1	49
MISON-CRIGHEL N. şi CONSTANTINESCU ELISABETA, Constante biochimice în sîngele eferent cerebral, splenic, hepatic şi renal, la cîine	4	491
MOŢET-GRIGORAŞ DAN, Coacervarea fracţiunilor proteice din serul sangvin uman denaturat prin căldură	2	257
OERIU S., Biochimia în biologia vîrstelor. Cisteina, factor esenţial în restabilirea echilibrului biochimic al animalului bătrîn spre valorile proprii animalului tînăr. Sinteză	3	321
OERIU S., OANCEA M. şi BALLIU ST., Biochimia în biologia vîrstelor. Vitamina B_{12} şi acizii folic şi pantotenic în funcţie de vîrsta animalului şi sub acţiunea cisteinei şi a unor vitamine cu rol de metilare şi de metabolizare a sulfului	2	195
OERIU S., RUSSU C. şi CRUCEANU I., Biochimia în biologia vîrstelor. Vitaminele PP, B_1, B_2 şi B_6 în funcţie de vîrsta animalului şi sub acţiunea cisteinei şi a unor vitamine cu rol de metilare şi de metabolizare a sulfului	2	187
OERIU S. şi ŞOIMU I., Biochimia în biologia vîrstelor. Studiul electroforetic al proteinelor serice în funcţie de vîrstă şi tratament	3	317

	Nr.	Pag.
OERIU S. şi TĂNASE I., Biochimia în biologia vîrstelor. Rolul aminoacizilor în mecanismul biochimic al proceselor de îmbătrînire la om	3	299
OERIU S. şi TĂNASE I., Biochimia în biologia vîrstelor. Rolul cisteinei şi al vitaminelor B_6, B_{12} şi acidului folic în metabolizarea aminoacizilor în funcţie de vîrstă	3	309
OERIU S., TEODORESCU O., şi TIGHECIU M., Studiul activităţii respiratorii şi dehidrazice la *Mycobacterium tuberculosis H. Ratti* sub acţiunea unor substanţe cu acţiune antituberculoasă	2	201
OERIU S. şi TIGHECIU M., Biochimia în biologia vîrstelor. Glutationul în funcţie de vîrstă şi sub acţiunea cisteinei, a acidului folic şi a vitaminelor B_6 şi B_{12}	2	191
PĂUNESCU EUG., Identificarea derivaţilor metabolici ai hidrazidei acidului izonicotinic	1	117
PĂUNESCU EUG. , Acţiunea hidrazidei acidului izonicotinic asupra activităţii reducătoare a celulei bacteriene	4	543
POPA LIVIU, Contribuţii la dozarea derivaţilor purinici ai acizilor nucleici	1	123
SĂNDULESCU CORNELIA şi BOLDEA ELENA, Date preliminare privitoare la proteinele din bobul cîtorva soiuri de grîu cultivate în R.P.R.	3	375
SCHELL HORST D., Comportarea proteinelor sangvine şi musculare faţă de unele substanţe curarizante fluorescente, derivate de la stilben. Notă preliminară	3	365
SCHELL HORST D., Interacţiunea unor substanţe curarizante fluorescente cu proteinele serice	4	505
SORU EUGENIA, ISTRATI MARIA, SZABADOS JUDITH, TĂNĂSESCU DINU şi PARASCHIVESCU MARIA, Contribuţii la studiul enzimologic al apariţiei fenomenului de rezistenţă bacteriană la antibiotice. I. Ciclul acizilor tricarboxilici la *Mycobacterium tuberculosis* BCG şi variantele corespunzătoare rezistente la streptomicină, PAS şi hidrazida acidului izonicotinic	4	449
SORU EUGENIA, TĂNĂSESCU D. şi PARASCHIVESCU MARIA, Aminoacizii liberi intracelulari la *Mycobacterium tuberculosis* BCG şi variantele sale rezistente la streptomicină, PAS şi INH	1	23
ŞELARIU C. şi MIHĂESCU S., Cercetarea comparativă a proteinelor solubile din mitocondriile de creier şi ficat de şobolan	3	349
ŞERBAN MIHAIL, Comportarea proteinelor cerebrale acvosolubile în procesul de salifiere şi desalifiere	1	103
VAISLER L., BIENER JEANA şi COSTINER EMMA, Cercetări asupra funcţiei de conjugare a ficatului la animale cu ficatul lezat şi la animale tratate cu vitamina B_{12}	1	97
VASU S., Comportarea coacervatelor proteino-pectice în prezenţa poligalacturonazei	4	517
VASU S., CÎRSTEANU MIOARA şi SARMANIOTI CORINA, Acţiunea benzedrinei şi medinalului asupra activităţii unor enzime din ţesuturile animale	2	265
ZAHARIA ODETTE, Accelerarea oxidării glicocolului prin sistemul polifenoloxidazic din floarea-soarelui în prezenţa prolinei	2	235
ZUGRĂVESCU I., MOŢOC FLORICA, CONSTANTINESCU SMARANDA şi CONSTANTINESCU C., Cercetări biochimice şi histologice asupra unor leziuni hepatice experimentale	3	339

АКАДЕМИЯ РУМЫНСКОЙ НАРОДНОЙ РЕСПУБЛИКИ

ИНСТИТУТ БИОХИМИИ

ТРУДЫ И ИССЛЕДОВАНИЯ
ПО БИОХИМИИ

Том IV 1961

АЛФАВИТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

	№	Стр.
БАТКУ А., К вопросу об изучении окислительно-восстановительного действия витаминов. Сообщение VII. Некоторые окислительно-восстановительные реакции витаминов Е и К	1	135
БАТКУ АЛЕКС. и БУСУИОК АСПАЗИЯ, Влияние витаминов на динамику фосфорных компонентов гематий	2	223
БОДЯ К., НИКОАРЭ Е., БИЛАУС К. и САЛОНТАИ Т., О биохимической характеристике плодов некоторых вегетативных гибридов томатов	2	205
БОДЯ К. и БИЛАУС КОРИНА, Исследования некоторых биохимических особенностей кукурузы. I. О содержании глютатиона в зернах кукурузы	3	333
БУРУИАНЭ Л. М., ХАДАРАГ Е., ДЕМА А. и ДЕМА И., Действие комплексного лучевого потока на эритроцитарную фосфомоноэстеразу	4	463
БУРУИАНЭ Л. М., ПАВЛУ В., ДЕМА И., ДИАКОНЕСКУ К. и ДЕМА А., Полярографические и электрофоретические исследования, касающиеся последствия облучения потоком нейтронов растворов сывороточных белков	4	473
БЫРСАН Е. Т., КУПАРЕНКУ Б., ГЭВРУШ А. и РУСУ Ж., Исследование изменений некоторых фосфоросодержащих соединений из миокарда, поперечно-полосатых мышц и легкого крыс, у которых вырезаны надпочечники	1	79
ВАЙСЛЕР Л., БИНЭР ЖАНА и КОСТИНЕР ЭММА, Исследование сопряженной функции печени у животных с пораженной печенью и у животных ,которым вводили витамин B_{12}	1	97
ВАСУ С., КЫРСТЯНУ МИОАРА и САРМАНИОТИ КОРИНА, Действие бензедрина и меданала на активность некоторых энзимов ткани животных	2	265
ВАСУ С., Поведение белково-пектовых коацерватов в присутствии полигалактуроназы	4	517
ГЕЦИЕ ВИКТОР и БУЗИЛЭ ЛУЧИА, Запасные и протоплазматические белки семян фасоли (Phaseolus vulgaris)	2	241

	№	Стр.
ГЕЦИЕ ВИКТОР, Увеличение электрофоретической разрешающей способности боратного буферного раствора при добавлении фосфатного иона	3	397
ГОНЦА ЯНКУ, ДУМИТРАКЕ С. и ШУЦЕСКУ ПАРАСКИВА, Потребность в белках работающего человека. IV. Механизм негативирования баланса азота в результате усилия	2	211
ГУРБАН К. и КРИСТЯ ЕЛЕНА, Наблюдения отношений фосфорилирования в митохондриях печени крысы в окислительной системе сукцината	4	551
ДАНКАНИТС ЕЛИЗАБЕТА, К вопросу о характеристике сортов клубники путем хроматографического определения некоторых органических кислот и глицидов	3	381
ДЖЕЙКУЛЕСКУ В., КЭПЫЛНЭ С., ПИНЧИУ И., ДИНКЭ А., ЛАЗЭР Т. и ДЖЕЙКУЛЕСКУ К., Биохимические изменения при астматической болезни в результате бальнеофизиотерапии в Говоре	1	129
ЗАХАРИЯ ОДЕТТ, Ускорение окисления гликоколя под действием полифенолоксидазной системы подсолнечника в присутствии пролина	2	235
ЗУГРЭВЕСКУ И., МОЦОК ФЛОРИКА, КОНСТАНТИНЕСКУ СМАРАНДА и КОНСТАНТИНЕСКУ К., Биохимические и гистологические исследования некоторых экспериментальных печеночных поражений	3	339
ИОНЕСКУ М. В., СЭУЛЕСКУ Н. Н., ИВЭНЕСКУ М. и БЫРСАН М. Некоторые биохимические характеристики хилой кукурузы	4	485
КИЦУЛЕСКУ И., БЭЛУЦЭ В. и ДИНЕСКУ Г., Биохимические данные относительно роли ацетилфосфата в деятельности нервной системы и механизм ее синтеза	1	87
КОСТЭКЕЛ О., ФУРНИКЭ М. и ТЭУТУ П., Изменения нуклеиновых кислот тканей под действием больших доз цитостатиков	1	69
ЛУЦЭ-МОЛДОВЯНУ НАТАЛИЯ, Активность холинэстеразы мозга на кураризирующие вещества	3	371
МАКОВСКИ ЕУДЖЕН, Некоторые данные относительно клеточных мембран и их проницаемости	1	9
МАКОВСКИ Е. и АРНЕТ ЛИЯ, Соотношение между амилазой, липазой, щелочной фосфатазой кровяной сыворотки человека и коацерватом, полученным из этой сыворотки с гуммиарабиком	1	1э
МАКОВСКИ Е., ИОРДАКЕ К. и ДРАГОМИРЕСКУ К., Фосфаген на различных стадиях мышечной активности и возбуждаемости	2	171
МАКОВСКИ Е., ФРУНЗЕТИ ВИОРИКА и БОТОШЭНЯНУ ЛИЛИКА, Физико-химические и метаболические факторы при передвижении раствора в растениях	4	423
МАНТА И., БЕДЕЛЯНУ Д., МУРЕШАНУ Л. и ГОРУН В., Биохимия атероматоза. Сообщение I. Биохимические исследования опытного атероматоза	1	31
МАНТА И., БЕДЕЛЯНУ Д., ЛАЗЭР Т. К. и МУРЕШАНУ ЛЕТИЦИЯ, Биохимия атероматоза. Сообщение II. Распределение ^{32}P в органах и тканях атероматозных кроликов, по сравнению с кроликами, которым вводили белковый гидролизат (казамин)	1	45
МАРКС А., Хроматографический анализ на ионообменных смолах аминокислот очищенного стафилококкового α — анатоксина	4	489
МАРКУ К., СТРОЕСКУ В. и ШВАРЦ РИТТА, Действие имипрамина на активность глюкозодегидрогеназы и цитохрома *C* из измельченного мозга крысы	4	537
МЕЗИНЧЕСКУ М. Д., СТРУГАЛИ Х., ТУДОР М. и ПИРКУ П., Распределение воды между вне- и внутриклеточными определенями в красных и белых мышцах	1	49
МЕЗИНЧЕСКУ М. Д., СЕРЕДЮК Е. и РОЗЕН П., Уровень дневных выделений аргинина и гликоциамина	1	59

	№	Стр.
МИСОН-КРИГЕЛ М. и КОНСТАНТИНЕСКУ ЕЛИЗАБЕТА, Биохимические постоянные в эфферентной крови мозга, селезенки, печени и почек собаки	4	491
МОЦЕТ-ГРИГОРАШ Д., Коацервация белковых фракций человеческой кровяной сыворотки, денатурированной под действием тепла	2	257
ОЕРИУ С., РУССУ К. и КРУЧАНУ И., Роль биохимии в возрастной биологии. Витамины PP, B_1, B_2 и B_6 в зависимости от возраста животного, от действия цистеина и некоторых метилирующих и способствующих обмену серы витаминов	2	187
ОЕРИУ С. и ТИГЕЧИУ М., Роль биохимии в возрастной биологии. Глутатион в зависимости от возраста и от действия цистеина, фолевой кислоты и витаминов B_6 и B_{12}	2	191
ОЕРИУ С., ОАНЧА М. и БАЛЛИУ Ш., Роль биохимии в возрастной биологии. Витамин B_{12}, фолевая и пантотеновая кислоты в зависимости от возраста животного и от действия цистеина и некоторых метилирующих и способствующих общему обмену серы витаминов	2	195
ОЕРИУ С., ТЕОДОРЕСКУ О. и ТИГЕЧИУ М., Изучение дыхательной и дегидразной активности под действием некоторых обладающих противотуберкулезным действием веществ	2	201
ОЕРИУ С. и ТЭНАСЕ И., Роль биохимии в возрастной биологии. Роль аминокислот в биохимическом механизме процессов старения у человека	3	299
ОЕРИУ С. и ТЭНАСЕ И., Роль биохимии в возрастной биологии. Роль цистеина, витаминов B_6 и B_{12} и фолиевой кислоты в обмене аминокислот в зависимости от возраста	3	309
ОЕРИУ С. и ШОЙМУ П., Роль биохимии в возрастной биологии. Электрофоретическое исследование сывороточных белков в зависимости от возраста и от лечения	3	317
ОЕРИУ СИМИОН, Роль биохимии в возрастной биологии. Цистеин — главный фактор в восстановлении биохимического равновесия старых животных до значений, свойственных молодому животному (обобщающие исследования)	3	321
ПОПА ЛИВИУ, К вопросу о количественном определении производных нуклеиновых кислот	1	123
ПЭУНЕСКУ Е., Выявление метаболических производных гидразида изоникотиновой кислоты	1	117
ПЭУНЕСКУ ЕУДЖ., Действие гидразида изоникотиновой кислоты на восстановительную способность бактериальной клетки	4	543
СОРУ ЕУДЖЕНИЯ, ТЭНЭСЕСКУ Д. и ПАРАСКИВЕСКУ МАРИЯ, Свободные внутриклеточные аминокислоты у Micobacterium tuberculosis BCG БКГ и ее разновидностей, устойчивых по отношению к стрептомицину, ПАС и ГИН	1	23
СОРУ ЕУДЖЕНИЯ, ИСТРАТИ МАРИЯ, САБАДОШ ЮДИТ, ТЭНЭСЕСКУ ДИНУ и ПАРАСКИВЕСКУ МАРИЯ, К вопросу об энзиматическом исследовании явления резистентности бактерий к антибиотикам. I. Цикл трикарбоксильных кислот у Micobacterium tuberculosis BCG и его разновидностей, резистентных по отношению к стрептомицину, ПАС и ГИН	4	449
СЭНДУЛЕСКУ КОРНЕЛИЯ И БОЛДЯ ЕЛЕНА, Предварительные данные относительно белков зерен некоторых сортов пшеницы, культивируемых в РНР	3	375
ФРУНЗЕТИ ВИОРИКА, БОТОШЭНЯНУ ЛИЛИКА и РЭДУЛЕСКУ САНДА, Влияние дигидрофолликулина и тестостерона на листьевую каталазу и на потребление кислорода стеблей Solanun licopersicum и Anthirrhinum majus	3	357
ФУРНИКЭ М. и ФУРНИКЭ Г., Об антихолинэстеразном действии некоторых радиозащитных веществ	3	387

	№	Стр
ХУЛУЦЭ К., ИОРДАКЕ КОРИНА, ШЕЛЛ Х. Д., КОНСТАНТИНЕСКУ О. и БЕНЯ В., Всход семян и обмен у саженцев Fraxinus excelsior L., выросших из семян, обработанных радиоактивным раствором ^{32}P	4	527
ШЕЛАРИУ К. и МИХЭЕСКУ С., Сравнительное исследование растворимых белков митохондрий мозга и печени крыс	3	349
ШЕЛЛ ХОРСТ Д., Поведение кровяных и мышечных белков по отношению к некоторым флуоресцентным кураризирующим веществам, производным стилбена (Предварительное сообщение)	3	365
ШЕЛЛ ХОРСТ Д., Взаимодействие между некоторыми флуоресцентными кураризирующими веществами и сывороточными белками	4	505
ШЕРБАН МИХАИЛ, Поведение растворимых в воде белков мозга в процессе засаливания и всаливания	1	103

ACADÉMIE DE LA RÉPUBLIQUE POPULAIRE ROUMAINE

INSTITUT DE BIOCHIMIE

ÉTUDES ET RECHERCHES DE BIOCHIMIE

Tome IV 1961

INDEX ALPHABÉTIQUE

	N°	Page
BATCU ALEX., Contribution à l'étude de l'action oxydo-réductrice des vitamines. Note VII. Certaines réactions d'oxydo-réduction des vitamines E et K	1	135
BATCU ALEX. et BUSUIOC ASPAZIA, Influence des vitamines sur la dynamique des composés phosphorés des hématies	2	223
BÎRSAN E. T., CUPARENCU B., GĂVRUŞ AL. et RUSU J., Etude des modifications de certains composés phosphorés, dans le myocarde, le muscle strié et le poumon du rat surrénalectomisé	1	79
BODEA C et BILAUS CORINA, Recherches sur certains caractères biochimiques, particuliers, du maïs. I. Sur la teneur en glutathion des grains de maïs	3	333
BODEA C., NICOARĂ E., BILAUS C. et SALONTAI T., Sur les caractères biochimiques des fruits de certains hybrides végétatifs de tomates	2	205
BURUIANĂ L. M., HADARAG EL., DEMA A. et DEMA I., Action d'un flux irradiant complexe sur la phospho-monoestérase érythrocytaire	4	463
BURUIANĂ L. M., PAVLU V., DEMA I., DIACONESCU C. et DEMA A., Recherches polarographiques et électrophorétiques concernant l'effet d'un flux de neutrons sur les solutions de protéines sériques	4	473
COSTĂCHEL O., FURNICĂ M. et TĂUTU P., Modifications des acides nucléiques des tissus après l'administration de doses létales de cytostatiques	1	69
DANKANITS ELISABETA, Contribution à l'établissement des caractères des variétés de fraisier, par détermination chromatographique de certains acides organiques et glucides	3	381
FRUNZETI VIORICA, BOTOŞĂNEANU LILICA et RĂDULESCU SANDA, L'action de la dihydrofolliculine et de la testostérone sur la catalase foliaire et sur la consommation d'oxygène, dans les tiges de *Solanum lycopersicum* et d'*Anthirrhinum majus*	3	357
FURNICĂ M. et FURNICĂ G., De l'action anticholinestérasique de certaines substances radioprotectrices	3	387
GEICULESCU V., CĂPÎLNĂ S., PINCIU I., DINCĂ A., LAZĂR T. et GEICULESCU G., Les modifications biochimiques dans la maladie asthmatique, à la suite de la balnéo-physiothérapie à Govora	1	129
GHEŢIE VICTOR, Augmentation de la capacité de résolution électrophorétique du tampon borate, par addition d'ion phosphate	3	397

	Nº	Page
GHEŢIE VICTOR et BUZILĂ LUCIA, Les protéines de réserve et les protéines protoplasmiques de la semence de haricot (*Phaseolus vulgaris*)	2	241
GONŢEA IANCU, DUMITRACHE S. et ŞUŢESCU PARASCHIVA, Le besoin de protéines de l'homme au cours du travail. IV. Mécanisme de la négativation du bilan azoté par suite de l'effort	2	211
GURBAN C. et CRISTEA ELENA, Observations sur le quotient de phosphorylation dans les mitochondries du foie du rat — système oxydatif du succinate	4	551
HULUŢĂ C., IORDACHE CORINA, SCHELL H. D., CONSTANTINESCU O. und BENEA V., Das Aufgehn der Samen und der Stoffwechsel bei Eschenjungpflanzen (*Fraxinus excelsior L.*), deren Samen mit Radiophosphor — $_{32}P$ — Lösungen behandelt wurden	4	527
IONESCU M. V., SĂULESCU N. N., IVĂNESCU M. et BÎRSAN M., Certains caractères biochimiques du maïs échaudé	4	485
KIŢULESCU I., BĂLUŢĂ V. et DINESCU G., Données biochimiques sur le rôle de l'acétylphosphate dans l'activité du système nerveux et sur le mécanisme de sa synthèse	1	87
LUŢĂ-MOLDOVEANU NATALIA, Activité de la cholinestérase du cerveau sous l'influence des curarisants	3	371
MACOVSCHI EUGEN, Quelques considérations sur les membranes cellulaires et sur leur perméabilité	1	9
MACOVSCHI E. et ARNET LIA, Les relations entre l'amylase, la lipase et la phosphatase alcaline du sérum sanguin humain et le coacervat obtenu avec ce sérum et la gomme arabique	1	15
MACOVSCHI E., FRUNZETI V. et BOTOŞĂNEANU L., Facteurs physico-chimiques et métaboliques du transport des solutions dans les plantes	4	427
MACOVSCHI EUGEN, IORDACHE CORINA et DRAGOMIRESCU CORINA, Le phosphagène dans divers états d'activité et excitabilité musculaire . .	2	171
MANTA I., BEDELEANU D., MUREŞANU L. et GORUN V., La biochimie de l'athéromatose. Note I. Recherches biochimiques dans l'athéromatose expérimentale	1	31
MANTA I., BEDELEANU D., LAZĂR T. C. et MUREŞANU LETIŢIA, La biochimie de l'athéromatose. Note II. La répartition du ^{32}P dans les organes et tissus des lapins athéromateux ou traités à l'hydrolysat de protéines (casamine)	1	45
MARCU C., STROESCU V. et SCHWARTZ RITTA, Action de l'imipramine sur l'activité de la gluco-déshydrogénase et du cytochrome c du broyat de cerveau de rat	4	499
MARX A., Analyse chromatographique des acides aminés de l'α-anatoxine staphylococcique purifiée, sur des résines d'échange ionique	4	537
MEZINCESCU M. D., SEREDIUC E. et ROSEN P., Le niveau des excrétions diurnes d'arginine et de glycocyamine	1	59
MEZINCESCU M. D., STRUGALI H., TUDOR M. et PIRCU P., Répartition de l'eau entre les compartiments extra- et intracellulaire dans les muscles rouges et les muscles blancs	1	49
MISON-CRIGHEL N. et CONSTANTINESCU ELISABETA, Constantes biochimiques du sang efférent cérébral, splénique, hépatique et rénal, chez le chien	4	491
MOŢET-GRIGORAŞ DAN, Coacervation des fractions protéiques du sérum sanguin humain dénaturé par la chaleur	2	257
OERIU S., Biochemistry in the biology of ages. Cysteine, an essential factor in the recovery of the biochemical equilibrium of old animals, towards values proper to young ones (A synthesis study)	3	321
OERIU S., OANCEA M. and BALLIU ST., Biochemistry in the biology of ages. Vitamin B_{12}, folic and pantothenic acids in relation to the age of the animals and upon administration of cysteine and of some vitamins playing a role in the processes of methylation and metabolization of sulphur . . .	2	195

	Nº	Page
OERIU S., RUSSU C. and CRUCEANU I., Biochemistry in the biology of ages. Vitamins PP, B_1, B_2 and B_6 in relation to the age of the animals and upon administration of cysteine and of some vitamins playing a role in the processes of methylation and metabolization of sulphur	2	187
OERIU S. and ŞOIMU I., Biochemistry in the biology of ages. Electrophoretic study of serum proteins in relation to age and treatment	3	317
OERIU S. and TĂNASE I., Biochemistry in the biology of ages. The role of amino acids in the biochemical mechanism of ageing processes in man	3	299
OERIU S. and TĂNASE I., Biochemistry in the biology of ages. The share of cysteine, vitamins B_6 and B_{12} and of folic acid in the metabolism of amino acids, in relation to age	3	309
OERIU S., TEODORESCU O. and TIGHECIU M., Study of respiratory and dehydrase activity of *Mycobacterium tuberculosis H. Ratti* in contact with antitubercular substances	2	201
OERIU S. and TIGHECIU M., Biochemistry in the biology of ages. Glutathione in relation to age and upon administration of cysteine, folic acid and vitamins B_6 and B_{12}	2	191
PĂUNESCU EUG., Identification des dérivés métaboliques de l'hydrazide de l'acide isonicotinique	1	117
PĂUNESCU EUG., Action de l'hydrazide de l'acide isonicotinique sur l'activité réductrice de la cellule bactérienne	4	543
POPA LIVIU, Contribution aux méthodes de dosage des dérivés puriques des acides nucléiques	1	123
SĂNDULESCU CORNELIA et BOLDEA ELENA, Données préliminaires relatives aux protéines des grains de quelques variétés de blé cultivées dans la République Populaire Roumaine	3	375
SCHELL HORST D., Comportement des protéines sanguines et musculaires en présence de certaines substances curarisantes fluorescentes, dérivées du stilbène (Note préliminaire)	3	365
SCHELL HORST D., Interaction de certaines substances curarisantes fluorescentes et des protéines sériques	4	505
SORU EUGENIA, ISTRATI MARIA, SZABADOS JUDITH, TĂNĂSESCU DINU et PARASCHIVESCU MARIA, Contribution à l'étude enzymologique de l'apparition du phénomène de résistance bactérienne aux antibiotiques. I. Le cycle des acides tricarboxyliques chez *Mycobacterium tuberculosis* BCG et chez ses variantes résistantes à la streptomycine, au PAS et à l'hydrazide de l'acide isonicotinique	4	449
SORU EUGENIA, TĂNĂSESCU D. et PARASCHIVESCU MARIA, Les acides aminés libres intracellulaires chez *Mycobacterium tuberculosis* BCG et chez ses variantes résistantes à la streptomycine, au PAS et à l'isoniazide	1	23
ŞELARIU C. et MIHĂESCU C., Etude comparative des protéines solubles des mitochondries du cerveau et du foie du rat	3	349
ŞERBAN MIHAIL, Le comportement des protéines cérébrales hydrosolubles au cours du processus de salification et désalification	1	103
VAISLER L., BIENER JEANA et COSTINER EMMA, Recherches sur la fonction de conjugaison du foie chez les animaux au foie lésé et chez les animaux traités à la vitamine B_{12}	1	97
VASU S., Comportement des coacervats protéino-pectiques en présence de la polygalacturonase	4	517
VASU S., CÎRSTEANU MIOARA et SARMANIOTI CORINA, Action de la benzédrine et du médinal sur l'activité de certains enzymes des tissus animaux	2	265
ZAHARIA ODETTE, Accélération de l'oxydation du glycocolle par le système polyphénoloxydasique de l'hélianthe, en présence de proline	2	235
ZUGRĂVESCU I., MOŢOC FLORICA, CONSTANTINESCU SMARANDA et CONSTANTINESCU C., Recherches biochimiques et histologiques sur certaines lésions hépatiques expérimentales	3	339

Pentru a vă asigura o colecţie completă şi primirea la timp a revistei, reînnoiţi abonamentul Dvs. pentru anul 1962.

ABONAMENTELE SE FAC LA OFICIILE POŞTALE, AGENŢIILE POŞTALE, PRIN FACTORII POŞTALI ŞI DIFUZORII VOLUNTARI DIN ÎNTREPRINDERI ŞI INSTITUŢII.

ÎN EDITURA ACADEMIEI R.P.R.

a apărut

ENZIMELE

DE

ILIE VASILESCU

Tabla de materii

Importanța teoretică și practică a reacțiilor catalizate de enzime

Capitolul I Chimia enzimelor

" II Cinetica reacțiilor enzimatice

" III Termodinamica reacțiilor enzimatice

" IV Clasificarea și nomenclatura enzimelor

" V Biologia enzimelor

" VI Descrierea enzimelor mai importante și reprezentative

" VII Sisteme enzimatice

Bibliografie

Din

STUDII ŞI CERCETĂRI DE BIOCHIMIE

au apărut:

Anul I, 1958, 4 n-re (a 5 lei);
anul II, 1959, 4 n-re (a 5 lei);
anul III, 1960, 4 n-re (a 5 lei);
anul IV, 1961, 3 n-re (a 5 lei).

Numerele curente se găsesc de vînzare la

LIBRĂRIA ACADEMIEI R.P.R.

Bucureşti, Calea Victoriei nr. 27, sau la orice librărie ştiinţifică din ţară.

Se pot comanda şi prin poştă la secţia „Cartea prin poştă" de pe lîngă Librăria Academiei R.P.R. sau la Librăria

„CARTEA PRIN POŞTĂ"

Bucureşti, str. Biserica Enei nr. 16, raionul I. V. Stalin.

Abonamentele se fac la oficiile poştale, prin factorii poştali şi difuzorii voluntari din întreprinderi şi instituţii.

Pentru străinătate cererile de numere izolate sau de abonamente se fac prin întreprinderea de stat pentru comerţ exterior „Cartimex" I.S.C.E., str. Aristide Briand nr. 14, sau Căsuţa poştală 134—135, Bucureşti.

I. P. 2. c. 4488

Lei 5.—